

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene

der Universität Rostock

(Direktor: Prof. Dr. Dr. med. Andreas Podbielski)

**PFGE-basierte Typisierung von Methicillin-resistentem *Staphylococcus aureus* an der Universität Rostock von 2004-2008 –
Ausbruchsverifikation und Verschiebung der klonalen
Zusammensetzung**

Inauguraldissertation

zur Erlangung des akademischen Grades Doktor der Medizin der Medizinischen Fakultät der
Universität Rostock



vorgelegt von

Piotr Pawel Gawlik aus Königshütte (Polen)

Rostock 04.10.2011

Dekan: Prof. Dr. Emil Reisinger

Dekan: Herr Prof. Dr. Emil Christian Reisinger

Erster Gutachter: Herr Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Andreas Podbielski
Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene
Schillingallee 70, 18055 Rostock

Zweiter Gutachter: Herr Prof. Dr. med. Thomas Mittlmeier
Medizinische Fakultät der Universität Rostock
Klinik und Poliklinik für Chirurgie
Abteilung für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie
Schillingallee 35
18055 Rostock

Dritter Gutachter: Herr Prof. Dr. med. Karsten Becker
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Domagkstrasse 10
48149 Münster

Tag der mündlichen Prüfung: 06.09.2011

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung / Abstract	5
2	Einleitung	8
2.1	Eigenschaften von <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2	Beschreibung von MRSA	9
2.3	Epidemiologische Daten zu MRSA	11
2.4	Kolonisierung und Übertragung von <i>S. aureus</i> und MRSA	13
2.5	Infektionserkrankungen mit <i>S. aureus</i> und MRSA	15
2.6	Therapie einer <i>S. aureus</i> - und MRSA-Infektion	17
2.7	Prävention einer Transmission von MRSA	19
2.8	Entwicklung der MRSA-Typisierung	22
2.9	Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit	24
3	Material und Methoden	26
3.1	Für die PFGE benötigte Puffer und Lösungen	26
3.2	Reagenzien	27
3.3	Nährmedien	28
3.4	Materialien	28
3.5	Geräte	29
3.6	Referenzstämme	30
3.7	Pulsfeldgelelektrophorese	31
3.8	Auswertung von PFGE-Mustern	33
3.9	Stammsammlung und Erfassung stammbezogener Daten	34
3.10	Erfassung der Hygiene-Daten	34
3.11	Auswertung der klinischen Daten und Statistik	35
4	Ergebnisse	36
4.1	Verteilung der Patientenzahl über die Jahre	36
4.2	Verteilung der Epidemiestämme über die Jahre	37

4.3	Verteilung der im Krankenhaus erworbenen bzw. außerhalb des Krankenhauses erworbenen Epidemiestämme	39
4.4	Patientenalter	42
4.5	Verteilung des Geschlechtes der Patienten	43
4.6	Verteilung der Klone zwischen Universität Rostock und Peripherie	44
4.7	Verteilung der MRSA-Fälle auf Fachbereiche	45
4.8	Nachgewiesene Ausbruchsgeschehen.....	49
4.9	Durchschnittliche Einsendezeit.....	52
4.10	Zeitdauer bis zur Befundmitteilung	53
4.11	Vorkommen der einzelnen Klone in verschiedenen Materialarten.....	54
4.12	Vorkommen der einzelnen Epidemiekclone in niedriger bzw. hoher Keimzahl.....	55
4.13	Vorkommen der Epidemiekclone in Rein- bzw. Mischkulturen.....	56
4.14	Antibiotikaresistenzen	57
4.15	Von extern zuverlegte Patienten mit MRSA	65
4.16	Kontaktpatienten	66
4.17	Zeit bis zur Erregerdetektion nach stationärer Aufnahme	67
4.18	Nosokomiale MRSA-Fälle und Infektionen	68
4.19	Krankenhausverweildauer der MRSA-Patienten.....	69
5	Diskussion	70
6	Literatur.....	82
7	Anhang	92
7.1	Abkürzungsverzeichnis.....	92
7.2	Abbildungsverzeichnis.....	94
7.3	Tabellenverzeichnis	95
7.5	Danksagung	96
7.6	Eidesstattliche Erklärung	97
8	Thesenblatt.....	98

1 Zusammenfassung / Abstract

Die Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE) ermöglicht den Vergleich klinischer Methicillin resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolate mit Stämmen definierter Epidemiekclone. Sechs Epidemiekclone werden im Raum Rostock als häufig angesehen: der „Norddeutsche“, „Süddeutsche“, „Hannoversche“, „Berliner“, „Barnimer“ und „Rhein-Hessen“ Klon. Die Arbeit beabsichtigt, die Verteilung der verschiedenen Klone am Universitätsklinikum Rostock im Verlauf von 5 Jahren zu untersuchen und mögliche Veränderungen in der Zusammensetzung aufzuzeigen.

Die genomische DNA der untersuchten MRSA Isolate wurde mit der Restriktionsendonuklease SmaI verdaut. Referenzstämme der oben beschriebenen Referenzstämme wurden auf jedem Gel als Kontrollen mitgeführt, um den direkten Vergleich zu ermöglichen. Die Untersuchung der gelelektrophoretisch aufgetrennten DNA-Fragmente wurde sowohl mittels makroskopischer Inspektion als auch mittels der Software GelCompar-II (Fa. Applied Maths) durchgeführt.

Wir untersuchten 127 verschiedene Isolate im Jahr 2004, 97 im Jahr 2006 und 176 im Jahr 2008. In den Jahren 2004, 2006 und 2008 ließen sich die klinischen Isolate wie folgt den Epidemieklonen zuordnen (in Prozent, absolute Zahlen in Klammern): „Norddeutscher“ 2% (3), 1% (1), 1% (2); „Süddeutscher“ 12% (15), 7% (7), 3% (6); „Hannoverscher“ 1% (1), 1% (1); 0% (0); „Berliner“ 5% (6), 1% (1), 2% (4); „Barnimer“ 15% (19), 13% (12), 35% (62); „Rhein-Hessen“ 65% (83), 77% (74), 58% (102). Ein Isolat aus dem Jahr 2006, das keinem der sechs Referenzstämme zugeordnet werden konnte, wurde durch das Nationale Referenzzentrum für Staphylokokken (RKI Wernigerode) als dem Wiener Klon zugehörig identifiziert.

Während die Epidemiekclone „Berliner“, „Hannoverscher“ und „Norddeutscher“ kaum an unserer Klinik vertreten waren und der Klon „Rhein-Hessen“ über die Jahre führend blieb, beobachteten wir eine relative Abnahme des „Süddeutschen“ Klons sowie eine auffällige Zunahme des „Barnimer“ Klons zwischen den Jahren 2004 und 2008.

Die Ergebnisse zeigen, dass eine in regelmäßigen Abständen durchgeführte PFGE-Analyse geeignet ist, Veränderungen in der lokalen Zusammensetzung von MRSA-Epidemieklonen über die Jahre aufzuzeigen. Typisierungsintervalle von 2 Jahren scheinen für einen orientierenden Überblick ausreichend zu sein. Bei gemeinsamer Aufarbeitung der Isolate

eines ganzen Jahres bleibt auch der mit der PFGE verbundene Zeit- und Arbeitsaufwand überschaubar.

Ferner gelangen mit der Methode die retrospektive Aufdeckung zuvor nicht erkannter lokaler Ausbruchsgeschehen, sowie die Verifizierung bekannter Geschehen. Die als Konsequenz eingeführten Änderungen im Hygieneregime der betroffenen Stationen verhinderten bisher weitere Ausbrüche an diesen Orten. Nicht geeignet erscheint die PFGE-Typisierung zur Vorhersage Klon-spezifischer Erregereigenschaften, so dass sich aus Veränderungen der klonalen Zusammensetzung keine unmittelbaren Hinweise auf therapeutische Konsequenzen ergeben.

Verschiedene neuere Methoden zur Typisierung von MRSA, besonders die seit April 2009 am Universitätsklinikum Rostock eingeführte *spa*-Typisierung, werden im Vergleich zur PFGE diskutiert.

Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) allows the comparison of clinical Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates with strains from defined epidemic clones. Six epidemic clones are regarded as common in Rostock: „Norddeutscher“, „Süddeutscher“, „Hannoverscher“, „Berliner“, „Barnim“ and „Rhein-Hessen“. The analysis intended to monitor the distribution of the different clones at the University hospital Rostock and possible changes in the course of five years.

The genomic DNA from MRSA isolates was analyzed using the restriction enzyme *SmaI*. Reference strains of the epidemic clones mentioned above were used as controls on every single gel to allow the direct comparison. Analysis of the DNA bands after electrophoretic separation was performed both by visual inspection and with the help of the software GelCompar-II (Applied Maths).

We analyzed 127 distinct isolates in 2004, 97 in 2006 and 176 in 2008. In the years 2004, 2006 and 2008 the clinical isolates clustered with the epidemic clones as follows (in percent, absolute count in brackets): “Norddeutscher” 2% (3), 1% (1), 1% (2); “Süddeutscher” 12% (15), 7% (7), 3% (6); “Hannoverscher” 1% (1), 1% (1); 0% (0); “Berliner” 5% (6), 1% (1), 2% (4); “Barnim” 15% (19), 13% (12), 35% (62); “Rhein-Hessen” 65% (83), 77% (74), 58% (102). One isolate in 2006 that could not be assigned to the six clones was subsequently identified as belonging to the “Wiener” epidemic clone by the National Reference Centre for staphylococci (RKI Wernigerode).

While the epidemic clones “Berliner”, “Hannoverscher” and “Norddeutscher” were and remained nearly absent at our hospital and the clone “Rhein-Hessen” was the predominant isolate over the years, we detected a relative decrease of the clone “Süddeutscher” and a marked increase of the clone “Barnim” between the years 2004 and 2008. The results suggest that regularly repeated PFGE analysis is a suitable method to detect local shifts in the distribution of the epidemic clones over the years. Typing intervals of two years appear to be sufficient for a general survey. In case of retrospective typing of all collected MRSA strains of a whole year during a defined period of time, the effort associated with the PFGE analysis remains acceptable.

Furthermore, the PFGE-based approach successfully identified unknown and confirmed known small outbreaks. The consecutively enforced changes of the hygiene procedures at the respective medical departments prevented further outbreaks. However, PFGE typing is not suitable for the prediction of clone-specific features of MRSA strains. So the information about changes of the clonal distribution does not result in specific therapeutic consequences.

Various new methods for MRSA typing are discussed in relation to PFGE. *Spa*-typing established at the University Hospital Rostock since April 2009 is especially stressed.

2 Einleitung

2.1 Eigenschaften von *Staphylococcus aureus*

Im Jahre 1880 beschrieb erstmalig der Chirurg *Ogston* durch Staphylokokken verursachte Abszesse und Septikämien (Ogston 1882). Die Spezies *Staphylococcus aureus* gehört zur Familie der Mikrokokken. *S. aureus* ist ein grampositives Bakterium und tritt in der mikrobiologischen Kultur in Haufen auf, weshalb auch von „Haufenkokken“ gesprochen wird. Der Name leitet sich aus dem Griechischem ab („staphyle“: Traube). *S. aureus* unterscheidet sich von anderen Spezies der Staphylokokken durch seine goldfarbene Pigmentierung in Kultur, durch die positive Testung der Koagulase, die Manitolfermentation und den positiven Deoxyribonuklease-Test (Wilkinson 1997). Das Genom von *S. aureus* besteht aus einem zirkulären Chromosom (ungefähr 2800 Millionen Basenpaare) mit Prophagen, Plasmiden und Transposons. Gene mit Virulenzfaktoren und die Resistenzen gegenüber Antibiotika sind sowohl chromosomal als auch extrachromosomal codiert (Novick 1990). *S. aureus* besitzt eine Reihe von Oberflächenproteinen auf der Zellwand. Das Penicillin-inaktivierende Enzym, die β -Laktamase, ist zellwandständig.

Die typische Eigenschaft von *S. aureus* Abszesse zu bilden wird durch verschiedene Enzyme erreicht, die zum einen das Gewebe zerstören und zum anderen zur Bildung einer Schutzkapsel um den Bakterienherd führen. Die Zerstörung des Gewebes wird durch Proteasen, Lipasen, Elastasen und Hyaluronidasen erreicht. Dagegen führt die Koagulase und der Clumping Faktor zur Aktivierung von Prothrombin, welches Fibrinogen in Fibrin überführt, wodurch eine Abszessbildung möglich wird. *S. aureus* kann ebenfalls einen Biofilm, bestehend aus einer komplexen Polymermatrix, bilden und damit die antimikrobielle Therapie und Immunabwehr umgehen (Donlan and Costerton 2002). Daraus wird ersichtlich, dass bei Besiedlung von Kathetern und künstlichen Klappen mit *S. aureus* ein Austausch der künstlichen Materialien notwendig wird. *S. aureus* kann der Immunabwehr durch Invasion in Endothelzellen und Formierung s.g. small-colony variants SCV umgehen. Mithilfe der SCV konnte in vitro die Persistenz von *S. aureus* in Gewebszellen nachgewiesen werden, die ohne die Zellen zu lysieren, die Immunabwehr umgehen und später zu einem virulenten Wildtyp konvertieren. Dieses Modell verdeutlicht wiederkehrende Infektionen mit *S. aureus*, wie sie z.B. bei Patienten mit Zystischer Fibrose auftreten (Kahl, Herrmann et al. 1998). Weitere

Schutzfaktoren vor der menschlichen Immunabwehr stellt das Protein A dar, dass die Fc-Region der Immunglobuline bindet und damit *S. aureus* vor Opsonierung schützt (Deisenhofer 1981). Zusätzlich bildet *S. aureus* das Enzym Leukocidin, welches durch eine Porenbildung in der Zellmembran die Leukozyten zerstört (Gladstone and Van Heyningen 1957). Die Virulenzfaktoren werden nach Bedarf durch regulatorische Gene gesteuert. In der Replikationsphase von *S. aureus* werden MSCRAMM-Moleküle (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) und in der stationären Phase die Gewebetoxine hochreguliert (Novick 2003; Yarwood and Schlievert 2003).

S. aureus kann zur einer Sepsis führen. Als Mechanismen werden zum einen die Peptidoglykanschicht (Timmerman, Mattsson et al. 1993), die Lipoteichonsäure (Heumann, Barras et al. 1994) und das α -Toxin (Bhakdi and Tranum-Jensen 1991) aufgeführt und zum anderen als Toxin wirkende Superantigene. Die Superantigene bewirken eine ausgeprägte T-Zellproliferation mit Zytokinausschüttung und der Folge einer möglichen Sepsis (Marrack and Kappler 1990). Zu den Superantigenen zählen das Panton-Valentine-Leukocidin (PVL), die Exfoliatine, das Toxic-Shock-Syndrom-Toxin-1 (TSST-1) und die Enterotoxine (SEs) (Becker, Friedrich et al. 2003). Das Panton-Valentin-Leukocidin ist gegen Leukozyten gerichtet und wird im Zusammenhang mit schweren Hautinfektionen oder Pneumonien beobachtet (Cribier, Prevost et al. 1992). Das Panton-Valentin-Leukocidin ist meist mit community-acquired Methicillin-resistent *Staphylococcus aureus* (ca-MRSA) assoziiert und wird durch die *lukS-lukF* Gene kodiert (Witte, Bräulke et al. 2005). Die Exfoliatine wirken epidermolytisch und verursachen dadurch Hautblasen, was klinisch als „Staphylococcal scalded skin syndrome“ (SSSS) bezeichnet wird. Die Enterotoxine, bestehend aus neun unterschiedlichen Serotypen, sind hitzestabil und verursachen bei Ingestion kontaminierter Nahrung eine Durchfallerkrankung (Balaban and Rasooly 2000).

2.2 Beschreibung von MRSA

Der Unterschied von MRSA zu MSSA (Methicillin-sensibler *Staphylococcus aureus*) liegt in der zusätzlichen Resistenz gegenüber Oxacillin und allen β -Lactam-Antibiotika. Während 80-90% der MSSA Isolate in Deutschland durch Bildung einer sezernierten β -Laktamase gegen Benzylpenicillin resistent sind, wird in MRSA Stämmen die β -Laktam-Resistenz über ein

verändertes Penicillinbindeprotein PBP2a vermittelt. Dieses Protein besitzt keine katalytische Aktivität für β -Laktame, sondern weist eine geringe Affinität gegenüber allen Betalaktamantibiotika auf und wird damit nicht in seiner eigentlichen Funktion, der Zellwandsynthese, gestört.

Das PBP2a wird durch das *mecA*-Gen kodiert und in seiner Expression durch regulatorische Elemente kontrolliert, die von den *mecI* und *mecR1* Genen kodiert werden (Chambers 1997). Diese Gene befinden sich auf einem mobilen genetischen Element, welches als „Staphylococcus cassette chromosome mec (*SCCmec*)“ bezeichnet wird. Es sind derzeit sieben unterschiedliche *SCCmec* Elemente bekannt. Die intra- und intergenomische Mobilität der *SCCmec* Elemente wird durch den „*ccr* gene complex“ erreicht. Dieser Genkomplex kodiert für spezifische Rekombinasen (*ccrA/ccrB/ccrC*) (Katayama, Ito et al. 2000).

Das *mecA*-Gen wurde erstmalig 1987 aus einem japanischem MRSA Stamm kloniert und sequenziert. Man geht davon aus, dass MRSA aus MSSA durch Aufnahme der *SCCmec* Elemente entstanden ist (Enright, Robinson et al. 2002).

Die Resistenz gegenüber Vancomycin wurde erstmalig bei *Staphylococcus hämolyticus* im Jahre 1987 beobachtet (Schwalbe, Stapleton et al. 1987). Bereits 1992 konnte in vivo und vitro durch Konjugation der Plasmid-DNA die Resistenzgenübertragung von *Enterococcus faecalis* zu *S. aureus* hinsichtlich Vancomycin nachgewiesen werden (Noble, Virani et al. 1992). Whitener et al. beschrieben, wie bei einem Patienten mit einem chronischen Fersenulkus in einer Mischkultur mit MSSA und VRE (Vancomycin resistenter Enterococcus) im Verlauf ein VRSA (Vancomycin resistenter *S. aureus*) nachgewiesen wurde, ohne dass der Patient Vancomycin als Antibiose erhielt (Whitener, Park et al. 2004). 1996 wurde erstmalig in Japan ein VISA (Vancomycin intermediärer *S. aureus*) beschrieben, welcher eine verminderte Vancomycinempfindlichkeit (definiert als minimale Hemmkonzentration, MIC zwischen 8 und 12 $\mu\text{g/ml}$) durch Zunahme der Dicke der Peptidoglykanschicht in der Zellmembran akquirierte (Hiramatsu 2001). Im Jahre 2002 wurde dann in den USA ein VRSA beschrieben, welcher das *vanA*-Gen trug (CDC 2002). In den folgenden 5 Jahren zwischen 2002 und 2006 wurden in den USA 7 VRSA isoliert (Sievert, Rudrik et al. 2008). Als Risikofaktoren für die Infektion mit VISA bzw. VRSA wurden die Vancomycin-Therapie in der Vorgeschichte oder der Trägerstatus eines MRSA vor dem Nachweis von VRSA beschrieben (Rotun, McMath et al. 1999; Smith, Pearson et al.

1999; Fridkin, Hageman et al. 2003). Die Mortalitätsrate von VISA-Infektionen ist gegenüber der von Infektionen mit *S. aureus* erhöht (Fridkin, Hageman et al. 2003).

2.3 Epidemiologische Daten zu MRSA

MRSA wurde erstmalig in Großbritannien im Jahre 1961 entdeckt, kurz nachdem Methicillin in die klinische Praxis eingeführt wurde (Jevons 1961). Rasch erfolgte die Ausbreitung von MRSA in den europäischen Krankenhäusern, so dass an der Universität Zürich bereits im Jahre 1965 und 1966 139 MRSA Isolate gefunden wurden (Benner and Kayser 1968). Auch in anderen europäischen Ländern wie Dänemark (Rosendal, Stenderup et al. 1963) und Frankreich (Chabbert and Baudens 1962) wurden rasch MRSA-Isolate entdeckt. In Dänemark verzeichnete man Ende der 60-iger Jahre einen MRSA-Anteil von 20% der *S. aureus* Isolate in den Blutkulturen (Siboni and Poulsen 1968). In Frankreich wurde 1963 in neun Krankenhäusern ein MRSA-Anteil von 19% und eine dramatische Mortalitätsrate von 48% bei den durch MRSA verursachten Sepsen gesehen (Bastin, Worms et al. 1967).

In den USA war bis 1967 kein Nachweis von MRSA erfolgt (Barrett, McGehee et al. 1968). In der Mitte der 80-iger Jahre waren MRSA-Anteile von 5-10% aller *S. aureus* Isolate in großen Kliniken beobachtet worden. Ab den 90-iger Jahren wurden auch kleine Krankenhäuser (Bettenzahl < 200) zunehmend befallen und der MRSA-Anteil stieg bis auf 20%. Auf den Intensivstationen in den USA wurden MRSA-Anteile bis 50% aller *S. aureus*-Nachweise bis Ende 1998 beobachtet (Chambers 2001). Im Jahre 2003 kam es zur weiteren Zunahme des MRSA-Anteils auf den Intensivstationen bis auf 59,5% bei einem Anteil von VRE, der mittlerweile 28,5% (NNIS 2003) betrug. Gründe für die erhöhten MRSA-Anteile werden in der vermehrten Zunahme der Verschreibung von Antibiotika, in der Zunahme der Inzidenz von ca-MRSA und inadäquaten Präventivmaßnahmen gesehen (Fridkin, Hageman et al. 2005; Kuehnert, Kruszon-Moran et al. 2006).

Zwischen 1980-1981 wurde bei Drogenabhängigen in Detroit ein Ausbruch beobachtet (Saravolatz, Pohlod et al. 1982). Dieser Ausbruch fand außerhalb des Krankenhauses statt, weshalb man von anderen MRSA-Stämmen ausging und diese Infektionen als ambulant erworben (ca = community-acquired) beschrieb. Mithilfe der PFGE konnten unterschiedliche Stämme bei den ca-MRSA und im Krankenhaus erworbenen ha-(hospital-acquired) MRSA

identifiziert werden (Adcock, Pastor et al. 1998). Der Unterschied zu ha-MRSA lag bei ca-MRSA in der geringeren Resistenzlage gegenüber Nicht-Beta-Laktam-Antibiotika. Ca-MRSA-Stämme waren nur gegen Beta-Laktam-Antibiotika resistent, während bei ha-MRSA multiple Resistenzen auftreten (CDC 1999). Außerdem werden von den ha-MRSA vorwiegend multimorbide Menschen befallen und Patienten mit chronischen Wunden oder vorbestehender antibiotischer Therapie, während von ca-MRSA Menschen ohne Risikofaktoren infiziert werden (Herold, Immergluck et al. 1998). Bei ca-MRSA-Stämmen finden sich typischerweise die *SCCmec* Typ IV, V und VII Elemente. Außerdem typisch für ca-MRSA ist das vermehrte Vorkommen des Toxins PVL (Panton-Valentine leukocidin). Inzwischen werden ca-MRSA auch von Krankenhauspatienten isoliert und es sind Ausbrüche in US-Krankenhäusern beschrieben worden.

Zwischen den 70-iger Jahren bis Mitte der 90-iger Jahre war die Prävalenz an MRSA in Europa niedrig. Die zweite Welle nach Erscheinen in den 60-iger Jahren kam in den frühen 80-iger Jahren aus Australien, USA und Irland. Man sah MRSA-Stämme, die mit Sepsis und Endokarditis assoziiert und auf Gentamicin resistent waren (Hone, Cafferkey et al. 1981). Die Epidemiekclone wurden mit der Phagentypisierung als EMRSA-1 oder EMRSA-3 bestimmt (Kerr, Kerr et al. 1990).

In den 90-iger Jahren lag der relative Anteil von MRSA an allen *S. aureus* Isolaten in Europa insgesamt bei 12,8%, wobei sich ein Nord-Süd-Gefälle zeigte. Nordische Länder wie Dänemark und Schweden hatten einen MRSA-Anteil von <1%, während der Wert in Spanien, Frankreich und Italien über 30% lag. (Voss, Milatovic et al. 1994). Laut der PEG-Resistenzstudie 2007, die den Mitteleuropäischen Raum mit Deutschland, Österreich und Schweiz abdeckt, stieg der MRSA-Anteil ab dem Jahr 1990 beträchtlich an. Bis 1990 wurde der Anteil an MRSA bei 2% gemessen. Ab 1995 nahm dieser auf 12,9% zu und erreichte 2007 einen Anteil von 20,3%. In Japan ist der Anteil von MRSA auf 60% gestiegen (Kimura, Igarashi et al. 1992). In Hongkong hat man Anteile von 25-30% (Cheng and French 1988).

In Frankreich und Slowenien wurde ab 2001 bis 2007 über einen Rückgang der MRSA-Häufigkeit berichtet. In Frankreich sank der MRSA-Anteil von 33% auf 26% (Anonymus 2008), während Slowenien den Anteil von MRSA von 21% im Jahr 2000 auf 8,3% im Jahr 2007 senken konnte (Cizman 2008).

Insgesamt war in den nordischen Ländern (Dänemark, Finnland, Island, Norwegen, Schweden) der Anteil von MRSA von 1997 bis 2004 mit Werten zwischen 3-10% am

niedrigsten in Europa. Eine Ausnahme bildet Finnland, wo seit 2002 ein drastischer Anstieg des MRSA-Anteils bis auf 30% beobachtet wurde (Skov 2005). Auch die bisher sehr niedrige Prävalenz in Dänemark ist aktuell durch ca-MRSA ansteigend (Bartels, Boye et al. 2007).

Der häufigste Epidemiestamm in Deutschland ist aktuell mit 46% Anteil am Gesamtnachweis aller MRSA-Isolate der Barnimer Klon. Der Barnimer Klon gehört dem klonalen Complex 22 (CC22/ST22) an. In der BURP Analyse wurden 37 unterschiedliche *spa*-Typen dem Barnimer Klon zugeschrieben (Strommenger, Bräulke et al. 2008). Zweithäufigster Epidemiestamm ist mit 40,6% Anteil am Gesamtnachweis der Rhein-Hessen-Epidemiestamm, der zum CC 5 (ST5, ST225) gehört. Beide Epidemiestämme sind in ganz Deutschland vertreten. Der Berliner Epidemiestamm (CC22/ST22) ist insbesondere in der Nordhälfte Deutschlands mit einem Anteil von 13,6% vertreten. Der Norddeutsche Epidemiestamm (CC8/ST247) macht einen Anteil von 1,6% aus, der Süddeutsche Epidemiestamm (CC5/ST228) 5%. Der Hannover-Klon (ST254) ist aktuell nicht unter den Top 10. Die Angaben beruhen auf Einsendungen in das NRZ im Jahre 2008 (Witte 2009).

Anhand der Daten wird ersichtlich, dass MRSA mittlerweile ein weltweites Problem darstellt.

2.4 Kolonisierung und Übertragung von *S. aureus* und MRSA

Der Mensch stellt ein natürliches Reservoir für *S. aureus* dar. 10-20% aller Erwachsenen sind mit *S. aureus* kolonisiert (Noble, Valkenburg et al. 1967). Dabei kann sowohl MSSA als auch MRSA den Menschen kolonisieren (Casewell and Hill 1986). Bevorzugt werden Nasenvorhöfe, Axillen, Pharynx, Vagina, Leiste, der Gastrointestinaltrakt und Wunden kolonisiert (Noble, Valkenburg et al. 1967). Bei ca-MRSA ist heterosexueller Geschlechtsverkehr ein möglicher Übertragungsweg (Cook, Furuya et al. 2007). Die Besiedlung der Nasenvorhöfe erfolgt durch Bindung an Mucin (Shuter, Hatcher et al. 1996). Es werden ebenfalls Fremdmaterial wie z.B. intravenöse Katheter leichter besiedelt. Dies erfolgt durch Benetzung der Materialien mit Fibronectin und Fibrinogen und nachfolgender Bindung mithilfe des MSCRAMM-Mechanismus (Vaudaux, Pittet et al. 1993). Die MSCRAMM-Moleküle binden an Kollagen, Fibrinogen und Fibronectin und spielen neben Katheterbenetzung eine wichtige Rolle in der Initiierung von endovaskulären-, Knochen- und Gelenkinfektionen. Unterschiedliche *S. aureus* Stämme mit verschiedenen MSCRAMM-

Molekülen könnten für die Invasion in bestimmtes Gewebe verantwortlich sein (Patti, Allen et al. 1994; Foster and Hook 1998).

Die Besiedlung der intravenösen Katheter mit *S. aureus* geht mit einem erhöhtem Endokarditisrisiko einher (Tsao and Katz 1984). Menschen, die mit *S. aureus* kolonisiert sind, haben ein erhöhtes Risiko für Infektionen (Wenzel and Perl 1995). Bestimmte Patientengruppen weisen eine erhöhte Anfälligkeit für *S. aureus* Besiedlungen auf. Dazu zählen die Typ-I-Diabetiker (Tuazon, Perez et al. 1975), i.v.-Drogenabhängige (Tuazon and Sheagren 1974), Hämodialysepatienten (Yu, Goetz et al. 1986) sowie chirurgische (Weinstein 1959) und immundefiziente Patienten (Weinke, Schiller et al. 1992).

Die Übertragung von *S. aureus* erfolgt meistens durch eine Schmierinfektion. Dabei sind Ansteckungen über Oberflächenkontakte (Boyce, Potter-Bynoe et al. 1997), über Hände des medizinischen Personals (Mulligan, Murray-Leisure et al. 1993) und nasale Sekrete (Boyce, Opal et al. 1993) beschrieben worden. Insbesondere stellt die Übertragung der resistenten Erreger wie MRSA und VRE durch Hände des medizinischen Personals einen wichtigen Übertragungsweg dar (Duckro, Blom et al. 2005). Boyce et al. stellten fest, dass in einem Raum mit MRSA infizierten Patienten in 73% die Umgebung mit MRSA besiedelt ist, ähnlich wie bei kolonisierten Patienten in 69% der Fälle (Boyce, Potter-Bynoe et al. 1997). In dieser Studie war nach der morgendlichen Pflege der MRSA-Patienten auf den Handschuhen der Krankenpfleger in 65% MRSA nachweisbar. Weitere 42% der Krankenpfleger hatten MRSA auf den Handschuhen, auch wenn sie keinen Kontakt mit dem MRSA-Patienten hatten und nur eine Raumpflege verrichteten. Neben Schmierinfektionen können auch Tröpfcheninfektionen zu Ausbrüchen von MRSA führen, entstehend z.B. durch eine nasale Kolonisierung des Besiedelten in Verbindung mit einem respiratorischen Infekt oder chronischer Sinusitis des Überträgers (Sheretz, Reagan et al. 1996). Faktoren, die eine Persistenz der multiresistenten Erreger in einem Krankenhaus begünstigen, umfassen ein empfängliches Patientenkollektiv, insbesondere nach einer Operation, Patienten mit intrakorporalen Kathetern (Urinkatheter, Endotrachealtuben), Intensivpatienten sowie Patienten mit Abwehrschwäche. Weitere Faktoren beinhalten den Selektionsdruck für multiresistente Erreger bei Antibiotikagebrauch und Übertragung durch kolonisierte Patienten (Bonten, Slaughter et al. 1998; Merrer, Santoli et al. 2000; Lautenbach, Patel et al. 2001). Demgegenüber steht die Implementierung von Präventivmaßnahmen.

2.5 Infektionserkrankungen mit *S. aureus* und MRSA

S. aureus kann zur einer Bakteriämie sowie zur Infektionen der Haut (Furunkel, Karbunkel, Weichteile), Wundinfektionen, Endokarditis, Sepsis und/oder metastatischen Absiedlungen mit Pneumonie, Osteomyelitis, Arthritis, Pyelonephritis und seltener zum epiduralen Abszess führen (Libman and Arbeit 1984; Musher, Lamm et al. 1994). Die häufigste nosokomiale Erkrankung in Europa und den USA auf den Intensivstationen ist die Beatmungspneumonie, wobei *S. aureus* gemäß den Daten zwischen 1997 und 2002 einen Anteil von 24,1% hatte (Gastmeier, Geffers et al. 2003). Eine *S. aureus* oder MRSA-Infektion wird oft durch den gleichen Stamm vermittelt, mit dem der Patient kolonialisert ist. Von Eiff et al. zeigten wie 82% der Patienten mit Bakteriämie mit einem klonal identischen MRSA besiedelt waren (von Eiff, Becker et al. 2001). MRSA verursacht ähnliche Erkrankungsbilder, wobei die Mortalität gegenüber MSSA höher liegt, wie aus einer über einen 5-jährigen Zeitraum angelegte Studie auf Intensivstationen durch das Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System KISS gezeigt wurde (Gastmeier, Sohr et al. 2005). Die Gründe dafür werden in verspäteter Initiierung einer adäquaten antibiotischen Therapie mit Vancomycin, verminderter Wirksamkeit von Vancomycin (Jones 2006) oder einer persistierenden Bakteriämie als spezifische Eigenschaft bestimmter MRSA-Stämme angenommen (Fowler, Sakoulas et al. 2004). Eine Besiedlung mit MRSA im Vergleich zu MSSA führt ebenfalls häufiger zu Infektionen (Muder, Brennen et al. 1991; Davis, Stewart et al. 2004). Trotz des erhöhten Anteils an Infektionen mit *S. aureus* oder MRSA bei kolonisierten gegenüber nicht-kolonisierten Patienten, haben Kolonisierte einen partiellen Schutz vor schwereren Erkrankungsverläufen im Vergleich zu nichtkolonisierten Patienten (Wertheim, Vos et al. 2004).

Eine Bakteriämie mit *S. aureus* führt in einem Drittel der Fälle zu Endokarditis und in einem weiteren Drittel zu metastatischen Absiedelungen. Eine infektiöse Endokarditis geht wiederum trotz einer aggressiven Therapie mit erhöhter Morbidität und Mortalität einher. Die Letalität bei einer Bakteriämie liegt zwischen 11 und 43% (Mylotte, McDermott et al. 1987). Die Risikofaktoren für eine erhöhte Letalität bei einer Bakteriämie mit *S. aureus* stellen ein Lebensalter >50 Lebensjahre, ein unsanierter Infektfokus sowie schwere Herz-, Lungen- oder neurologische Erkrankungen dar. Der häufigste Grund für eine Bakteriämie ist ein liegender Katheter (Steinberg, Clark et al. 1996).

Nur ein geringer Teil der Bakteriämien verläuft septisch. *S. aureus* ist der häufigste grampositive Erreger einer Sepsis. Die Klinik einer Sepsis mit *S. aureus* verläuft wie bei gramnegativen Bakterien mit Fieber, Hypotonie, Tachykardie und Tachypnoe. Schwere Fälle führen zu Multiorganversagen, disseminierter intravasaler Gerinnung, Laktatazidose und Tod (Bone 1994).

Der Anteil der *S. aureus* Endokarditis an allen Endokarditiden liegt zwischen 25 und 35% (Sanabria, Alpert et al. 1990). Dabei beträgt das Risiko, bei einer Linksherzendokarditis eine embolische oder neurologische Komplikation zu erleiden, ca. 50%. (Chambers, Korzeniowski et al. 1983). Die Letalität einer nosokomialen Endokarditis beträgt zwischen 40 und 56%, bei *S. aureus* liegt diese darüber (Fernandez-Guerrero, Verdejo et al. 1995). Nach einer herzchirurgischen Operation mit Einsatz einer künstlichen Herzklappe ist *S. aureus* der häufigste Erreger. Die Endokarditis an einer künstlichen Herzklappe verläuft oft fulminant mit Ausbildung eines myokardialen Abszesses und einer valvulären Insuffizienz (Fang, Keys et al. 1993).

Das TSST-1-Protein von *S. aureus* verursacht das Toxische-Schock-Syndrom (TSS). Das als Superantigen wirkende TSST-1 bindet an MHC-II Rezeptoren und führt zur antigen-unpezifischen Aktivierung von T-Zellen und Makrophagen mit unkontrollierter Freisetzung vasoaktiver Zytokine, wodurch klinisch die Schocksymptomatik mit hohem Fieber und Blutdruckabfall resultiert (Bohach, Fast et al. 1990; Bone 1994). Das TSS trat erstmalig 1980 auf und wurde bei menstruierenden Frauen beobachtet, die superabsorbierende Tampons benutzten. 90% der TSS Erkrankungen waren ursprünglich in Assoziation mit Tampons aufgetreten. Dieser Anteil verschob sich in den letzten Jahren zugunsten von lokalen Infektionen, chirurgischen Eingriffen oder Insektenstichen, die in einem Drittel der Fälle beobachtet werden. Antikörper gegenüber TSST-1 scheinen vor Manifestation des TSS zu schützen (McCormick, Yarwood et al. 2001).

Der Unterschied der klinischen Bilder bei ca-MRSA gegenüber ha-MRSA liegt in der häufigeren Infektion der Haut und des Weichteilgewebes bei ca-MRSA. Bei ca-MRSA können die klinischen Bilder ebenfalls dramatisch verlaufen mit nekrotisierender Pneumonie, nekrotisierender Fasciitis, Osteomyelitis und Sepsis (Adem, Montgomery et al. 2005; Zetola, Francis et al. 2005).

2.6 Therapie einer *S. aureus*- und MRSA-Infektion

Die Therapie einer *S. aureus* Infektion erfolgt mit penicillinastabilen Antibiotika aufgrund der sehr häufigen Resistenz gegenüber Penicillin. Geeignete Antibiotika stellen z.B. die Cephalosporine der 1. oder 2. Generation dar (Cefuroxim, Cefazolin).

Eine Endokarditis mit *S. aureus* wird nach der American Heart Association AHA mit 6-wöchiger Oxacillin- in Kombination mit 3-5-tägiger Gentamicintherapie durchgeführt. Bei Penicillinallergie wird Cefazolin empfohlen, bei MRSA Vancomycin. Handelt es sich um eine künstliche Herzklappe, wird die antibiotische Therapie um Rifampicin bei MSSA und MRSA erweitert (Baddour, Wilson et al. 2005).

Die Therapie der MRSA-Infektion erfolgt optimalerweise nach Antibiotogramm. Die aktuellsten Empfehlungen zur Therapie von MRSA Infektionen stammen aus dem Jahr 2006 von der Joint Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy, Hospital Infection Society and Infection Control Nurse Association. Dabei wird bei unkomplizierten Haut- und Weichteilinfektionen sowie unkomplizierten Harnwegsinfektionen Tetracyclin empfohlen. Im Falle einer komplizierten Haut-, Weichteil oder Harnwegsinfektion, Osteomyelitis, Arthritis, Bakteriämie, Pneumonie werden Glykopeptide eingesetzt. Falls eine Monotherapie nicht greift, kann eine Kombinationstherapie mit Glykopeptid und Fusidinsäure oder Glykopeptid und Rifampicin eingesetzt werden, vorausgesetzt, die gegen diese Substanzen liegt keine Resistenz vor. Eine Monotherapie mit Rifampicin oder Fusidinsäure wird aufgrund sehr schneller Resistenzbildung nicht empfohlen. In Einzelfällen kann bei schwierigen Infektionen wie bei einer Endokarditis eine Trippletherapie aus Glykopeptiden mit Rifampicin und Sulfamethoxazol/Trimethoprim erforderlich sein (Fujino, Amari et al. 2009). Eine Alternative zu Glykopeptiden stellt Linezolid dar. Linezolid hat den Vorteil der guten oralen Bioverfügbarkeit. Ein Fallbericht zeigt einen erfolgreichen Einsatz von oral verabreichten Linzeolid bei einer Endokarditis mit MRSA bei fehlendem intravenösen Zugang (Nathani, Iles et al. 2005). Bei postoperativen oberflächlichen Augeninfektionen sollte Genatmicin oder Chloramphenicol verwendet werden. Keine Empfehlungen werden zu ZNS-Infektion, Impetigo und Infektionen der tiefen Augenanteile mit MRSA abgegeben (Gemmell, Edwards et al. 2006).

Bei VISA oder VRSA können die Oxazolidinone wie Linezolid zur Verwendung kommen (Khare and Keady 2003). Eine Linezolid-Resistenz ist momentan selten. Die erste klinische

Linezolid-Resistenz ist 2001 bei einem Dialysepatienten beschrieben worden (Tsiodras, Gold et al. 2001). Linezolid bindet an die V-Region der 23S ribosomalen RNA und unterbricht damit die Proteinsynthese. Eine Mutation in dem Gen *G2576U*, welches sich in der V-Region befindet, bedingt eine verminderte Bindungsfähigkeit von Linezolid und verursacht die Resistenz (Pillai, Sakoulas et al. 2002). Eine Infektion durch MRSA mit Linezolid-Resistenz kann mit dem neuen antibiotisch wirksamen cyclischen Lipopeptid Daptomycin oder dem Streptogramin Quinapristin-Dalfopristin behandelt werden. Gegenüber Quinapristin-Dalfopristin existieren bereits zahlreiche Resistenzmechanismen. Es wird postuliert, dass der Einsatz von dem Streptogramin Virginiamicin in der Tierhaltung die Resistenz gegenüber Quinapristin-Dalfopristin bedingt hat (Hershberger, Donabedian et al. 2004). Eine vergleichende in vitro Untersuchung bei VRSA zeigte die niedrigste mittlere Hemmkonzentration (middle inhibitory concentration) MIC bei Daptomycin und Quinapristin-Dalfopristin gefolgt durch Linezolid, Telavancin und Vancomycin (Leuthner, Cheung et al. 2006). Bei Daptomycin sollten die schlechte Penetrierbarkeit der Blut-Hirn-Schranke sowie die Inaktivierung durch Surfactant bei Pneumonien beachtet werden. Vielversprechend ist die Tatsache, dass im Endokarditismodell mithilfe Daptomycin 99,9% der MRSA innerhalb einer Stunde eradiziert wurden. Ein Fallbericht demonstrierte den erfolgreichen Einsatz von Daptomycin nach erfolgloser Therapie mit Linezolid bei einem Patienten mit nekrotisierender Pneumonie und septischen Schock verursacht durch einen PVL-positiven MSSA. Allerdings sind auch gegenüber Daptomycin Resistenzen beschrieben worden, wobei der Resistenzmechanismus noch nicht bekannt ist (Mangili, Bica et al. 2005). Neben Resistenzen, die eine Therapie schwierig gestalten, sollte bei schweren Infektionen ein PVL-positiver *S. aureus* in Betracht gezogen werden. Eine Studie beschrieb, dass bei schweren Weichteil- oder Knocheninfektionen, aber auch Pneumonien, ein PVL-positiver *S. aureus* vorliegen kann (Scheffold, Esposito et al. 2007).

Zu den neuen Pharmaka zählt das Lipoglykopeptid Telavancin, welches gegenüber VRSA vielversprechende Erfolge zeigte. Eine Phase III Studie zeigte, dass Telavancin gegenüber Vancomycin, sowohl bei Hautinfektion als auch bei nosokomialen Pneumonien, mit resistenten grampositiven Erregern gleichwertig ist (Bassetti, Mikulska et al. 2009).

Haut- oder Weichteilinfektion mit Ausbildung von Abszessen bedürfen einer chirurgischen Sanierung aufgrund der schlechten Penetranz der Antibiotika in die Abszessformation. Im Mausmodell wurde die Effizienz einer photodynamischen Therapie bei einer Hautinfektion mit MRSA untersucht. Es zeigte sich eine deutliche Inaktivierung der Aktivität von MRSA

und eine schnellere Heilung innerhalb von 8,6 Tagen. Dies könnte in Zukunft eine antibiotikaunabhängige Therapieoption bei MRSA Hautinfektionen darstellen (Dai, Tegos et al. 2010).

2.7 Prävention einer Transmission von MRSA

Die Prävention einer Transmission von MRSA mithilfe der Auswertung von Surveillance Daten, Screeningmethoden, Isolation der Patienten, Dekolonialisierung mit topischer Antibiose und Umwelthygiene wird nachfolgend diskutiert.

Als Präventionsmaßnahme hat sich eine administrative Unterstützung des medizinischen Personals als effektiv erwiesen. Mithilfe einer monatlichen Auswertung von MRSA-Raten in einem Krankenhausverbund und nach regelmäßiger Rücksprache mit Stationsleitern und Mitarbeitern in einer prospektiv angelegten Studie, konnte die MRSA-Rate um 50% in einem 3-jährigen Zeitraum gesenkt werden (Curran, Benneyan et al. 2002). Eine Compliancestudie der medizinischen Mitarbeiter zur Händedesinfektion zeigte, dass durch eine organisierte Führung die Compliance größer ist und damit die Inzidenz von multiresistenten Erregern gesenkt werden kann (Larson, Early et al. 2000). Eine administrative Unterstützung wird ebenfalls benötigt, um dem medizinischen Personal mitzuteilen, welche Patienten in der Vergangenheit besiedelt bzw. infiziert waren, bei der Unterstützung der Mengenbestimmung und Platzierung von Abwaschbecken und alkoholhaltigen Desinfektionsmittelspendern sowie zur Ermutigung des medizinischen Personals, die Hygienemaßnahmen einzuhalten (Curtis, Cook et al. 2006).

Eine Schulung des medizinischen Personals im Umgang mit peripheren Zugängen, zentralvenösen Kathetern und intubierten Patienten stellt ein wichtiges Tool zur Prävention von Bakteriämien und nosokomialen Pneumonien dar. (Coopersmith, Rebmann et al. 2002; Berenholtz, Pronovost et al. 2004). Mithilfe von Schulungen des medizinischen Personals in Handhygiene, kann das Auftreten von multiresistenten Erregern gesenkt werden (Larson, Early et al. 2000).

Studien, die die Wirksamkeit der Screeningmethoden als unabhängige Präventionsmaßnahme belegen, fehlen. Es wird über methodische Schwächen in zahlreichen Studien berichtet, die Screeningmethoden und Isolierung in Hinblick auf die Reduzierung der Inzidenz der

Infektion und Kolonisation mit MRSA (Turner, Wailoo et al. 2003) untersuchten. Trotz der methodischen Schwierigkeiten in den Studien werden Screeningmethoden empfohlen. Dabei wird, um die Kolonisierung der Patienten mit MRSA und weiteren multiresistenten Keimen aufzudecken, ein regelmäßiges Screening mittels Abstrich und Bakterienkulturen aller Patienten in einem Krankenhaus empfohlen (Muto, Jernigan et al. 2003). Dies stellt die Voraussetzung für die Isolierung bzw. Kohortenbildung der MRSA-Patienten dar.

Eine wichtige präventive Maßnahme stellt die Isolierung von MRSA-Patienten bzw. eine Kohortenbildung von mehreren MRSA-Patienten in einer Räumlichkeit dar. In einem französischen Lehrkrankenhaus wurden in einem 1-jährigen Zeitraum Präventionsmaßnahmen bestehend aus Isolierung infizierter oder kolonialisierter Patienten (MRSA und Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)), Schulung der Mitarbeiter in Hygiene (Händedesinfektion, Benutzung von Einmalhandschuhen und Einmalkitteln) hinsichtlich der Auswirkungen auf die Inzidenz von MRSA und ESBL untersucht (Eveillard, Eb et al. 2001). Es zeigte sich eine signifikante Reduktion der MRSA- um 17,9% und ESBL-Inzidenz um 54,9% bei Zunahme des Verbrauchs an Antiseptika. Die Daten aus dem Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System KISS, an dem 164 Intensivstationen teilnahmen, belegen, wie eine Isolierung von Patienten mit MRSA in Einzelzimmern oder Kohorten zur niedrigeren MRSA-Infektionsraten führt (Gastmeier, Schwab et al. 2004). Die Leitlinien des Center of Disease Control and Prevention (CDC) empfehlen ebenfalls die Isolierung von MRSA-Patienten in Einzelzimmern oder Kohorten (CDC 2007).

Eine weitere präventive Maßnahme ist die Dekolonisierung von MRSA-Patienten zum Schutz nicht-kolonisierter Patienten. Die Wirksamkeit einer Dekolonisierung mithilfe von Mupirocin bei MRSA-Trägern in einem Altenheim wurde in einer doppelblinden Studie mit 93% Erfolg belegt (Mody, Kauffman et al. 2003). Allerdings wurde unter einer dauerhaften Therapie mit Mupirocin eine Dekolonisierung nur bei 61% der Patienten beobachtet. Eine dauerhafte Therapie wird ebenfalls aufgrund einer Resistenzentwicklung kritisch betrachtet (Dupeyron, Campillo et al. 2002). Zu erwägen ist die Dekolonisierung insbesondere bei präoperativen Patienten, die mit MRSA besiedelt sind, da Daten für eine Risikoreduktion einer postoperativen Infektion vorliegen (Wilcox, Hall et al. 2003). Eine Dekolonisierung kann ebenfalls helfen, eine Ausbruchssituation auf einer Station zu unterbinden. Dies kann erwogen werden, falls durch Isolation und Personalhygiene keine suffiziente Ausbruchskontrolle möglich ist (Hitomi, Kubota et al. 2000). Eine Prävention gegenüber

einer Infektion bei Patienten mit bekannter MRSA-Besiedlung und geplanter Operation bei nicht-dokumentierter Eradikation erfolgt mit Glykopeptiden (Gemmell, Edwards et al. 2006).

Nach Entlassung eines MRSA-Patienten stellt die Dekontamination des kontaminierten Raums eine wichtige präventive Maßnahme dar. Eine effektive Dekontamination von Räumen, Möbeln und Geräten nach MRSA-Exposition kann unter anderem mit Hydrogenperoxid-Dampf erreicht werden (French, Otter et al. 2004).

Weiterhin sollte ein Informationsaustausch zwischen Behandlungseinrichtungen stattfinden, um Patienten mit MRSA gleich bei der Aufnahme zu isolieren. In Zweifelsfällen wird eine Isolation bzw. Kohortenbildung empfohlen, bis 3 Abstrichkulturen negativ sind.

Eine optimale Prävention der Patienten vor Übertragung von MRSA oder anderen resistenten Erreger umfasst alle angesprochenen Bereiche. Dies veranschaulicht eine Studie zur Untersuchung der Transmissionssenkung von MRSA bei Kohortenisolation. Es zeigte sich kein Erfolg, die MRSA-Übertragungen zu senken, da die Einhaltung der Händehygiene lediglich 21% betrug (Cepeda, Whitehouse et al. 2005).

Zahlreiche Autoren verglichen die Kosten der präventiven Maßnahmen (Screening, Isolation, wöchentliche Kultur von Abstrichen) mit den Kosten, die durch Vernachlässigung dieser Maßnahmen entstanden wären. Alle sind sich einig, dass präventive Maßnahmen kostengünstiger sind als die Nichtbeachtung dieser mit der Folge erhöhter Infektionszahlen mit MRSA und die dadurch entstehenden Kosten durch verlängerte Therapie- und Hospitalisierungsdauer. (Chaix, Durand-Zaleski et al. 1999; Karchmer, Durbin et al. 2002; Vriens, Blok et al. 2002).

2.8 Entwicklung der MRSA-Typisierung

Mit einem Typisierungsverfahren soll geklärt werden, ob die epidemiologisch verwandten MRSA-Isolate eine genetische Verwandtschaft besitzen oder ob es sich um klonal unterschiedliche Stämme handelt. Dafür ist notwendig, dass ein Typisierungsverfahren zwischen klonal verwandten und nicht verwandten Isolaten sicher unterscheiden kann. Dies bezeichnet man als Diskriminationsfähigkeit eines Typisierungsverfahrens.

Die SmaI Makrorestriktion des MRSA-Genoms in Kombination mit einer PFGE wurde zum „Goldstandard“ der MRSA-Typisierungsmethoden aufgrund der exzellenten Diskriminationsfähigkeit gewählt. Insbesondere eignet sie sich für lokale epidemiologische Untersuchungen. Das Problem der PFGE lag anfangs in der Standardisierung der Protokolle und der Interpretation der Makrorestriktionsmuster zur Heranziehung dieser Technik zur nationalen und internationalen Vergleichbarkeit der MRSA-Typen (Murchan, Kaufmann et al. 2003). Die neuen Typisierungsverfahren wie MLST und *spa*-Typisierung mit BURP-(based upon repeat pattern) Algorithmus stellen eine Weiterentwicklung und Verbesserung der Typisierungsverfahren aufgrund der Leichtigkeit der Anwendung, der Reproduzierbarkeit und der nationalen und internationalen Vergleichsmöglichkeiten dar (Aires-de-Sousa, Boye et al. 2006). Die Entwicklung geeigneter Software für MLST wie das eBURST (Feil and Enright 2004) und das BURP (Sammeth and Stoye 2006) für die *spa*-Typisierung machen es möglich, klonale Linien zu identifizieren. Es gibt eine gute Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen von PFGE, *spa*-Typisierung und MLST (Hallin, Deplano et al. 2007). Die Profile, die durch MLST gewonnen werden, stimmen gut mit den PFGE Makrorestriktionsmustern überein. Eine *spa*-Typisierung ist auch gegen spontane Punktmutationen unempfindlich. Die so ermittelten Typen weisen eine gute Stabilität über die Zeit auf, was für Ausbruchsbestimmungen wichtig ist (Enright, Day et al. 2000).

Die Entdeckung der PFGE geht auf den Amerikaner *Charles Cantor* zurück, der mit *David Schwartz* die PFGE für sehr große DNA Moleküle erfand. Bei der Technik ermöglicht die periodische wechselnde Richtung der Spannung eine bessere Auftrennung größerer DNA-Fragmente in der Gel-Elektrophorese (Schwartz and Cantor 1984). Es gelang den Wissenschaftlern am Beispiel von *Saccharomyces cerevisiae*, die Diskriminierung der DNA-Fragmente von 750kB auf 2000kB auszudehnen.

Dabei war die DNA-Präparation und der Restriktionsverdau in Agaroseblöcken eine Voraussetzung für die elektrophoretische Auftrennung in molekülgrößen-assoziierte Banden, da aufgrund von Scherkräften große DNA-Moleküle leicht brechen (Gadepalli, Dhawan et al. 2009). Bei der Elektrophorese treten die DNA-Moleküle in die Poren des Agars ein. Es zeigte sich, dass Agarosegele in einer Konzentration von 1,5% eine gute Permeabilität für DNA aufweisen, was die Auftrennung der DNA ermöglicht.

Zuvor beschrieben *Lumpkin et al.*, dass die DNA Moleküle in DNA-Coils vorliegen (Como-Sabetti, Harriman et al. 2009). Wenn nun bei einer elektrophoretischen Auftrennung ein DNA-Coil in ein elektrisches Feld mit Agarosegel eintritt, muss es sich parallel zum elektrischen Feld strecken. Danach wird das Feld ausgeschaltet und ein neues senkrecht dazu stehendes Feld wieder eingeschaltet. Nun müssen sich die DNA-Coils reorientieren und in neue Agarose-Poren eintreten. Die Zeit der Reorientierung hängt vom molekularen Gewicht der DNA-Coils ab.

Charles Cantor experimentierte mit homogenen und inhomogenen elektrischen Feldern, die senkrecht zueinander angeordnet waren. Er stellte fest, dass die beste Auftrennung in der Kombination zweier inhomogener Felder lag. Besser praktikabel war jedoch die Kombination aus einem homogenen und inhomogenen Feld, da man so ein dichtes Bandenmuster, bedingt durch viele DNA-Fragmente, auftrennen konnte. Ein weiterer wesentlicher Faktor für ein besseres Auflösungsvermögen war die Optimierung der Pulsdauer. Es zeigte sich, dass eine mittlere Pulsdauer von ca. 20 Sekunden zur besten Auflösung der Bandenmuster führte. Eine längere oder eine kürzere Pulsdauer verschlechterte dabei das Auftrennungsvermögen. Anhand dieser Technik gelang es *Charles Cantor* 11 der 17 Chromosome des Eukaryonten *Saccharomyces cerevisiae* aufzutrennen.

1995 beschrieben *Bannerman et al.* eine Ablösung der bis dahin gängigen Bakteriophagentypisierung von *Staphylococcus aureus*, die bis dahin 30 Jahre dominierte, durch die PFGE. In der Studie von *Bannermann et al.* konnte PFGE als neuer Goldstandard bei den Phagentypen weitere Subtypen identifizieren (Shimizu, Naka et al. 2008). Versuche mit Plasmidtypisierung zeigten dagegen nur ein moderates Diskriminationsvermögen (Prevost et. al 1992). Aufgrund einer geringen Reproduzierbarkeit und einer hohen Fehlerrate von 15-20% bei der Phagentypisierung und einer guten Typisierbarkeit und Diskriminationsfähigkeit bei der PFGE-Typisierung beschloss das Center for Disease Control and Prevention, die PFGE als neue Typisierungstechnik für die Erkennung von Ausbrüchen anzuwenden.

2.9 Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit.

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Bedeutung von PFGE zur Subtypisierung von MRSA anhand von im Rostocker Universitätsklinikum zwischen 2004 und 2008 gesammelten klinischer Isolate. Es zeigten sich 7 bekannte MRSA-Epidemiekclone im Untersuchungszeitraum. Dazu zählten die Klone Barnimer, Berliner, Hannoverscher, Norddeutscher, Süddeutscher, Rhein-Hessischer und der Wiener Klon. Das Auftreten der Epidemiekclone auf Stationen der Universität Rostock wurde im Rahmen der krankenhaushygienischen Überwachung untersucht, mit dem Ziel lokale Ausbruchsgeschehen zu verifizieren. Dazu wurde untersucht, welche Epidemiekclone in welchem zeitlichen Zusammenhang auf den jeweiligen Stationen auftraten.

Es wurde ein zweijähriges Untersuchungsintervall zwischen 2004 und 2008 gewählt. In diesem Zeitraum analysierten wir die Veränderung der klonalen Zusammensetzung an der Universität Rostock gesamt und in den einzelnen Abteilungen und prüften, ob zwischen dem Ergebnis der PFGE-Typisierung und klonspezifischen Erregereigenschaften wie Antibiotikaresistenzen, Assoziation mit bestimmten Patientenmaterialien oder -kollektiven, Vorkommen in Einzel- oder Mischkulturen, Vorkommen in niedriger oder hoher Keimzahl Assoziationen bestehen.

Desweiteren wurden ergänzende hygienerelevante Informationen gesammelt, um nicht nur erregerspezifische Veränderungen, sondern auch die Umsetzung der Daten in hygienische Maßnahmen auf den Stationen aufzuzeigen. Dazu wurden Daten wie die Dauer bis zur Einsendung des Materials, Zeitdauer bis zur Befundmitteilung seitens unseres mikrobiologischen Instituts sowie Erfassung von MRSA-Kontaktpatienten gesammelt und ausgewertet.

Schließlich blieb uns zu beantworten, ob sich die Zahl der nosokomialen Fälle im Untersuchungszeitraum senken ließ, um neben dem wichtigen gesundheitlichen Schutz der Patienten auch unter dem wirtschaftlichen Aspekt die Krankenhausverweildauer zu senken.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Wissensstand über MRSA und die möglichen Typisierungsverfahren beleuchtet, um die vorliegende Untersuchung besser einordnen zu können. Dabei wurde versucht, wichtige Aspekte des heutigen Wissenstandes darzulegen, die

PFGE-Technik als solche einzuordnen sowie Zukunftsperspektiven in der mikrobiologischen Diagnostik aufzuzeigen.

3 Material und Methoden

3.1 Für die PFGE benötigte Puffer und Lösungen

SE-Puffer:

75mM NaCl (2,19g NaCl), 25mM EDTA (4,65g EDTA), pH 7,4

TE-Puffer:

10mM Tris (1,21g Tris), 10mM EDTA (3,72g EDTA)

0,5M Tris-Puffer:

0,5M Tris (12,2g Tris), pH 7,4

TBE-Puffer x 10:

900mM Tris (109g Tris), 900mM Borsäure (55,6g Borsäure), 20mM EDTA (7,4g EDTA), pH 8

EC-Puffer:

6mM Tris-HCl (0,47g Tris-HCl), 1M NaCl (29,2g NaCl), 100mM EDTA (18,61g EDTA), 0,5% Brij 58 (2,5g Brij 58), 0,2g Desoxycholat (1g deoxycholate), 0,5% Sarcosin (2,5g N-Lauryl-Sarcosin), pH 7,5

ES-Puffer:

0,5M EDTA (37,2g EDTA), 1%N-Laurylsarcosin (2g N-Laurylsarcosin), pH 8

Lysostaphin:

5mg Lysostaphin (2500 U) + 25ml 50mM Tris-Puffer: Konzentration: 100U/ml

Lysozym (Fa. Roche):

0,05g Lysozym + 10ml EC-Puffer: Konzentration: 5mg/ml

Proteinase K zum Protein-Verdau (Fa. Boehringer):

100µl Proteinase K (5mg/ml) + 900µl ES-Puffer: Konzentration 0,5mg/ml

Restriktionspuffer für SmaI (Fa. Roche):

10x Restriktionspuffer A mit 9ml sterilem Aqua dest. verdünnen

2% Agarose (Typ VII-A: „Low Gelling“ temperature)

0,4g Agarose + 20ml SE-Puffer, in der Mikrowelle anschließend kurz aufkochen

1% Pulsed Field Agarose:

1,6g peq Gold Pulsed Field Agarose + 160ml 0,5xTBE-Puffer, unter Aufkochen in der Mikrowelle lösen

Ethidiumbromidlösung:

25µl Ethidiumbromidlösung + 500ml Aqua dest., Konzentration 10mg/ml

3.2 Reagenzien

Natriumchlorid

Triplex III (EDTA)

Tris

Tris-hydrochlorid

Brij[®] 58

Deoxycholic Acid Sodium Salt

N-Lauryl-Sarcosin

Borsäure

Agarose Typ VII-A: Low Gelling Temperature

peqGold Pulsed Field Agarose

Lysostaphin

Lysozym

Proteinase K

Restriktionspuffer SuRe/Cut Buffer A (10x conc. Solutions), Fa. Roche

Restriktionsenzym SmaI, Fa. Roche

Ethidiumbromid

Steriles Aqua dest.

DNA-Standard: Lambda DNA Ladders

3.3 Nährmedien

9ml sterile Caseinpepton-Sojamehlpepton-Bouillon, Fa. Heipha

Columbiaagar mit 5% Schafsblut, Fa. Becton Dickinson

3.4 Materialien

Einmal-Gebrauchshandschuhe

Mikroliterpipetten: 2-20µl, 20-100µl, 30-200µl, 200-1000µl

Sterile Pipettenspitzen

Sterile Plastikröhrchen 1,5ml

Reagenzglasgestell

Reaktionsgefäßständer

Sterile Glasstäbe

Schott-Duran-Laborflaschen: 250ml, 500ml, 1000ml

Sterile Erlenmeyerkolben, Fa. Sarstedt

Sterile Messzylinder

Wasserfester Faserstift

Abwurfbehälter mit Desinfektionslösung

Autoklavierbarer Entsorgungsbeutel für Tischabwurf

Autoklaviersäcke für Abfallcontainer

Sagrosept-Tücher

Skalpelle/Spatel

Sterile Pinzette

Küvetten 10x4x45mm, Fa. Sarstedt

Färbewanne

Magnetrührer

Wasserwaage

Disposable Plug Mold (Einweggießform für Agaroseblöckchen), Fa. Bio-Rad

Gelkammer mit Kunststoffkamm, Fa. Bio-Rad

Glasplatte mit verstellbaren Metallfüßen

Sterile Petrischale 90mm

3.5 Geräte

Brutschrank 36+/- 1°C, Fa. Heraeus

Biofuge pico (Zentrifuge), Fa. Heraeus

Thermostat plus, Fa. Eppendorf

Magnetrührer mit Heizplatte, Fa. IKA[®] Labortechnik

CHEF-DR III Pulsed Field Elektrophoresis System, Fa. Bio-Rad

Waage, Fa. Sartorius

Analysenwaage, Fa. Mettler Toledo

Wasserwaage

Schüttler, Fa. Gerhardt

Photometer, Fa. Pharmacia

Vortex Mixer, Fa. neoLab

Mikrowelle 650W, Fa. Jump

Photoeinrichtung: Gel Jet Imager, Fa. Intas

Gefriertruhe: 7-20°C, Fa. Foron

Kühlschrank 2-8°C, Fa. Liebherr

Sicherheitswerkbank, Fa. BDK

Thermometer testo 925, Fa. Testo

3.6 Referenzstämme

Bei jeder MRSA-PFGE wurden folgende Stämme mitgeführt:

Norddeutscher Epidemiestamm: MRSA 1765/98

Süddeutscher Epidemiestamm: MRSA 1766/98

Hannoverscher Epidemiestamm: MRSA 1767/98

Berliner Epidemiestamm: MRSA 1769/98

Barnimer Epidemiestamm: MRSA 2321/01

Rhein-Hessen Epidemiestamm: MRSA 2387/00

3.7 Pulsfeldgelelektrophorese

Mit der PFGE-Typisierung können Bakterienspezies differenziert werden. Das Prinzip der PFGE besteht darin, dass die genomische DNA aus Bakterien verschiedener Klone unterschiedliche Sequenzen aufweist. Diese Diversität betrifft auch die Erkennungssequenzen für selten im jeweiligen Genom schneidende Restriktionsenzyme. Daher wird die genomische DNA aus unterschiedlichen Isolaten in unterschiedlich große und zahlreiche Fragmente zerlegt. Diese Fragmente lassen sich im Rahmen einer PFGE entsprechend ihrer Größe in Form von Banden auftrennen. Zur Darstellung der Banden erfolgt eine Anfärbung des Elektrophoresegels mit Ethidiumbromid. Unter UV-Beleuchtung strahlen die gefärbten Banden und können fotografiert werden.

Im Wesentlichen kann die Durchführung der PFGE in 8 Schritte eingeteilt werden:

1. Anzucht der Bakterien: Der Stamm wird auf Columbiaagar ausgestrichen und über Nacht bei 36°C bebrütet. Dann werden 1-3 Kolonien in 9ml TSB (Tryptic Soy Broth = Tryptikase-Soja-Bouillon) bei 36°C über Nacht bebrütet. TSB ist ein nährstoffreiches Medium speziell für aerobe Bakterien. Nach der Bebrütung wird die Bouillon zur Suspension der gewachsenen Bakterien geschüttelt. Von der Suspension wird 1ml in 1,5ml Plastikröhrchen überführt, danach erfolgt die Zentrifugation bei 4000 rpm über 10 Minuten. Der Überstand wird abpipettiert und der Vorgang zur Anreicherung der Bakterien wiederholt. Das gewonnene Sediment wird in 1ml SE-Puffer resuspendiert, geschüttelt und erneut bei 4000rpm 10 Minuten zentrifugiert, der Überstand verworfen. Das so gewaschene Sediment wird nun in 500µl SE-Puffer aufgenommen und suspendiert.
2. Einstellung der Zellsuspension: Für die Weiterverarbeitung ist eine Einstellung der optischen Dichte von 3 notwendig. Nach Herstellung einer 1:100 Verdünnung (990µl SE-Puffer + 10µl Zellsuspension) wird die optische Dichte (OD) bei einer Wellenlänge von 600nm gemessen. Der Nullwert wurde zuvor mit SE-Puffer eingestellt. Für die Berechnung der optischen Dichte wird die gemessene Extinktion mit 100 multipliziert (da 1:100 verdünnt). Die gemessene optische Dichte wird durch die OD von 3 dividiert, so dass man den Verdünnungsfaktor erhält. Mithilfe des

Verdünnungsfaktors kann nun die Menge an Zellsuspension und SE-Puffer ausgehend von einem Gesamtvolumen von 300µl berechnet werden.

3. Einbettung der Bakterien in Agaroseblöcke: Zur Herstellung der Agaroseblöckchen wird 0,4g Agarose (Typ VII-A: "Low gelling" temperature) in 20ml SE-Puffer suspendiert, in der Mikrowelle aufgekocht und auf 50°C abgekühlt. Auf diese Weise erhält man 2%ige Agarose. Nun werden die Blöckchen in eine Blöckchengießform gegossen: 300µl Zellsuspension (3 OD) + Lysostaphin (100 U/ml) + 400µl 2% Agarose. Das Lysostaphin eignet sich zur Lyse der Zellwand, die bei Staphylokokken vorwiegend aus Peptidoglycin-Verbindungen besteht. Die Blöckchen werden 30 Minuten lang bei 4°C abgekühlt.

4. Isolierung der genomischen DNA:

4.1 Lyse der Zellen: Die Lyse der Zellen erfolgt mit Lysozym. Lysozym spaltet die β -1,4-glycosidische Bindung zwischen N-Acetyl-D-Muraminsäure und 2-Acetyl-amino-2-Desoxy-D-Glucose (= N-Acetyl-D-Glucosamin) in den Zuckerketten des Peptidoglykangerüsts der Bakterienzellwand. Die erstarrten Blöckchen werden in 1ml Lysozympuffer (Lysozym 5mg/ml in EC-Puffer) gegeben und über Nacht bei 36°C inkubiert. Anschließend wird der Puffer abpipettiert.

Nun erfolgt die Lyse mit Proteinase K. Das Enzym greift Peptidbindungen sowohl an den Enden (Exopeptidase), als auch im Inneren (Endopeptidase) der Proteine an, somit können Proteine in Zelllysaten zur Freisetzung der Nukleinsäuren abgebaut werden. Es wird 100µl Proteinase K mit 900µl ES-Puffer vermischt und das Blöckchen darin über Nacht bei 50°C inkubiert. Danach wird der Puffer abpipettiert.

4.2. Waschen der Blöckchen: Nach der Lyse erfolgt das viermalige Waschen mit 1ml TE-Puffer. Die Blöckchen können auf diese Weise bei 4°C für bis zu 6 Monate gelagert werden.

5. Restriktionsverdau der DNA: Zunächst wird der TE-Puffer entfernt. Die Blöckchen werden anschließend passend zugeschnitten (ca. 5x3mm) und in 1,5ml Plastikröhrchen gegeben. Die Blöckchen werden nun mit 100µl Restriktionspuffer A bei 25°C für insgesamt 3x30 Minuten äquilibriert. Nach Entfernung des Restriktionspuffers erfolgt die Verdauung mit 30U SmaI, wobei 100µl Restriktionspuffer A mit 3µl Restriktionsenzym SmaI pro Blöckchen eingesetzt

werden. Dann erfolgt die Inkubation über Nacht bei 25°C. Nach der Inkubation wird der Restriktionspuffer abpipettiert, dann wird 200µl TE-Puffer hinzugefügt.

6. Auftrennung der DNA mittels PFGE: Zur Vorbereitung der Elektrophoresekammer werden 2,5l TBE-Puffer benötigt, 0,5l TBE-Puffer benötigt man für die Herstellung des Agarosegels. Je nach Probenzahl wird ein kleines bzw. großes Gel verwendet. Dabei wird zunächst 1% Agarose mit 0,5 x TBE-Puffer in einer Laborflasche suspendiert, in der Mikrowelle aufgekocht und dann auf 50-60°C abgekühlt. Die Agarose kann nun in der Gelkammer auf eine Höhe von 5-6mm aufgefüllt werden, anschließend lässt man sie für 30-60 Minuten mit einem Spezialkamm mit Zinken in Blöckchengröße am oberen Rand im Inneren erstarren. Nun wird das PFGE-System (CHEF-DR-III) vorbereitet und die Elektrophoresekammer mit 2,5 Litern 0,5 x TBE-Puffer aufgefüllt. Nach Entfernung des Kamms aus dem erstarrten Gel können die Blöckchen eingesetzt werden. Dabei werden die erste und die letzte Spur des Gels mit DNA-Standards beladen.

Das Power-Modul wurde wie folgt programmiert: Anzahl der Programme: 1, Anfangsumschaltzeit: 5 Sekunden, Endumschaltzeit: 35 Sekunden, Laufzeit: 22 Stunden, Spannung 5,5 V/cm, Winkel 120°. Dann wird der Lauf gestartet.

7. Färben des Gels mit Ethidiumbromid zur Darstellung der DNA: Nach Abschaltung des CHEF-DR III-Systems wird das Gel aus der Kammer entnommen, in eine Färbewanne mit 0,5µl/ml Ethidiumbromidlösung gelegt und auf dem Schüttler bei leichter Rotation für 30 Minuten gefärbt. Anschließend erfolgt die Entfärbung des Gels in 500ml Aqua dest. für 2 x 60min.
8. Fotografieren des Gels: Das Gel wird mit UV-Licht beleuchtet, mittels Gel Jet Imager fotografiert und das entstandene Bild ausgedruckt.

3.8 Auswertung von PFGE-Mustern

Die Bandenmuster werden mit denen der 6 bekannten Epidemiestämmen, die bei jeder MRSA-PFGE mitgeführt werden, verglichen. Die technische Durchführung erfolgt mit der Software GelCompar2 (Fa. AppliedMaths).

3.9 Stammsammlung und Erfassung stammbezogener Daten

Die Stammsammlung entstand am Institut für Mikrobiologie, Virologie und Hygiene der Universität Rostock durch kontinuierliches Sammeln der MRSA-Isolate.

In diese Sammlung flossen die – typischerweise - Erstisolate von MRSA-Trägern und frisch infizierten Patienten ein. Die vorliegende Arbeit untersucht retrospektiv die Isolate der Jahre 2004, 2006 und 2008. Die zugehörigen patientenbezogenen Daten wurden durch die Hygienefachkräfte des Klinikums gewonnen. Die in der Routinediagnostik erkannten Antibiotikaresistenzmuster der Stämme wurden in die Auswertung miteinbezogen. Der Antibiotikaverbrauch am Klinikum wurde aus der entsprechenden Statistik der Klinikumsapothek e entnommen.

3.10 Erfassung der Hygiene-Daten

Durch das Laborpersonal und die Hygienefachkräfte wurden folgende Daten zu den MRSA-Fällen erfasst:

- Datum der Probenabnahme (eingeteilt nach Jahr und Monat)
- Name des Patienten, im nachfolgenden kodiert in die ersten 2 Buchstaben des Vor- und Nachnamens
- Geburtsdatum der Patienten, daraus Berechnung des Alters der Patienten in Jahren
- Geschlecht der Patienten
- Labornummer der Probe
- soweit bekannt, zugehöriger Epidemiestamm
- Ort der Isolierung: Universität Rostock oder andere Orte (entspricht Peripherie)
- Abteilung bzw. Klinik, in der der Patient behandelt wurde
- Station, von der der Patient kam
- Zeit zwischen Abnahme der Probe und Ankunft im Labor
- Materialart der Probe
- Keimmenge in der Probe
- Auftreten von Rein- oder Mischkulturen in der Probe
- Keimmenge aller Erreger in der Probe

- Zeit bis zur telefonischen Mitteilung des Erregers (auch des Verdachts)
- Resistenzmuster des MRSA-Isolates
- Erfassung von extern zuverlegten Patienten
- Erfassung der nosokomialen vs. nichtnosokomialen Infektionen und Kolonisationen
- Dauer des Krankenhausaufenthaltes der Patienten
- MRSA-Tage des Patienten am Klinikum
- Gesamtliegedauer der Patienten in Tagen
- Zeitdauer bis zur Entnahme des Abstrichs in Tagen
- Tage im Krankenhaus bis zum Nachweis des MRSA
- Erfassung der Kontaktpatienten von MRSA-Trägern

3.11 Auswertung der klinischen Daten und Statistik

Die Daten wurden in Exceltabellen zusammengefasst und nachfolgend mit Excel- und mit der Software GraphPad InStat 3 statistisch ausgewertet. Fisher's exakter Test wurde zur Analyse der nicht-numerischen Daten eingesetzt, während die numerischen Daten mit Student's T-test mit unterschiedlichen Varianzen mit der Software GraphPad InStat 3 und Microsoft® Excel ausgewertet wurden. Signifikanz wurde ab $p < 0.05$ akzeptiert, Werte von $p < 0.01$ wurden als hoch signifikant, Werte von $p < 0.001$ als höchst signifikant angesehen.

Es wurde auch die Einordnung in nosokomiale Infektionen bzw. Kolonisationen vorgenommen, wobei die nosokomiale Infektion als Keimnachweis nach > 72 h nach Einweisung ins Krankenhaus definiert ist.

Ein Ausbruch wurde als Nachweis von ≥ 3 nosokomialen Infektionen oder Kolonisationen verschiedener Patienten mit einem MRSA-Klon innerhalb eines Monats definiert, wobei maximal ein Stamm eines Patienten nicht nosokomial erworben sein konnte (möglicher „Indexpatient“).

4 Ergebnisse

4.1 Verteilung der Patientenzahl über die Jahre

Im Jahr 2004 wurden an der Universität Rostock 127 Patienten mit MRSA identifiziert und für jedes Isolat eine Subtypisierung mittels PFGE durchgeführt. Im Jahr 2006 waren es 97 und im Jahr 2008 waren es 176 Isolate. Dabei wurden nur Patienten in die Statistik aufgenommen, bei denen zum ersten Mal MRSA isoliert werden konnte. Es wurden nur die Patienten mehrmals in die Auswertung aufgenommen, bei denen zu unterschiedlichen Zeiten gewonnene Materialien diverse MRSA-Epidemiestämme nachgewiesen wurden. Die Veränderung der Patientenzahl mit nachgewiesenem MRSA veränderte sich vom Jahr 2004 zu 2006 und von 2004 zu 2008 höchst signifikant ($p < 0,0001$), während die Veränderung vom Jahr 2006 zu 2008 nicht signifikant war ($p = 0,52$).

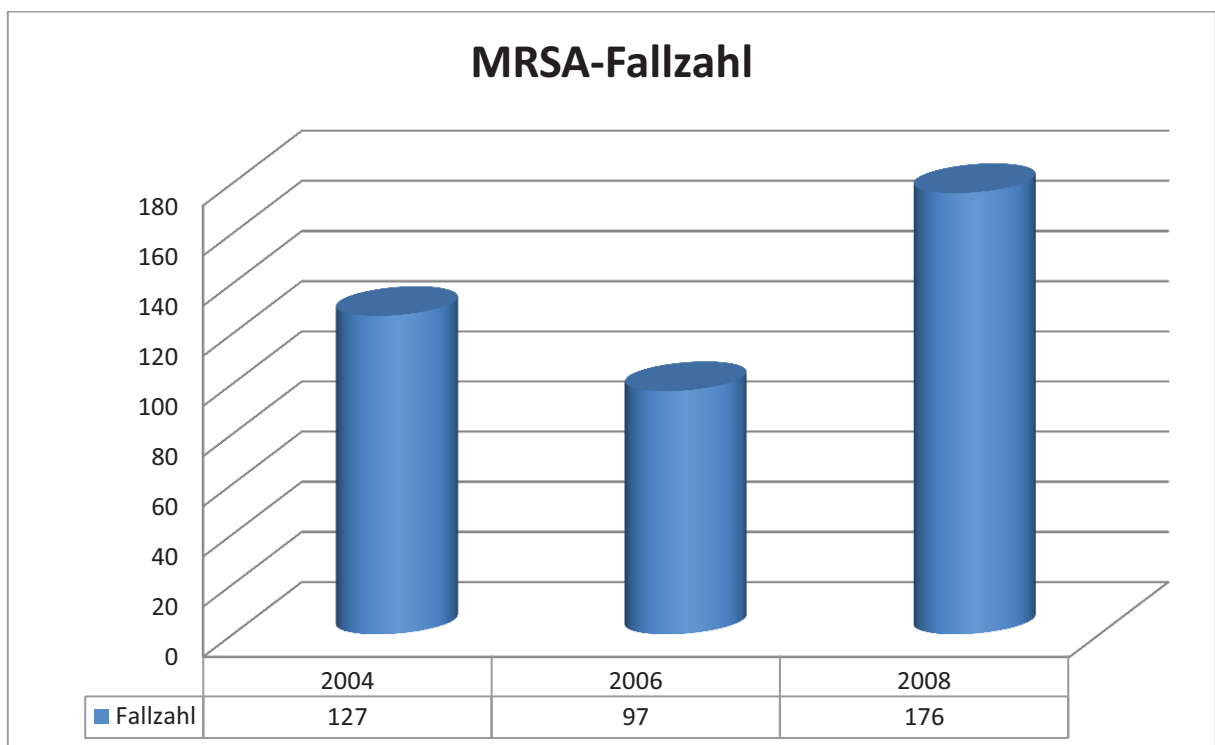


Abb. 1. Zahl der in die Untersuchung aufgenommenen MRSA-Patienten des Rostocker Universitätsklinikums in den Jahren 2004, 2006 und 2008. In die Untersuchung gingen nur Patienten ein, von denen die MRSA-Isolate verfügbar waren. Jeder Patient zählt als ein Fall, außer bei Nachweis genetisch verschiedener MRSA-Stämme zu unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten.

4.2 Verteilung der Epidemiestämme über die Jahre

Zwischen den Jahren 2004 und 2008 wurden an der Universität Rostock insgesamt 7 unterschiedliche MRSA-Epidemiestämme isoliert. Dazu zählten die Epidemiestämme Barnimer, Berliner, Hannoverscher, Norddeutscher, Süddeutscher, Rhein-Hessischer und Wiener. Die Epidemiestämme Rhein-Hessischer, Barnimer und Süddeutscher machten im gesamten Untersuchungszeitraum 95,1% der Isolate aus.

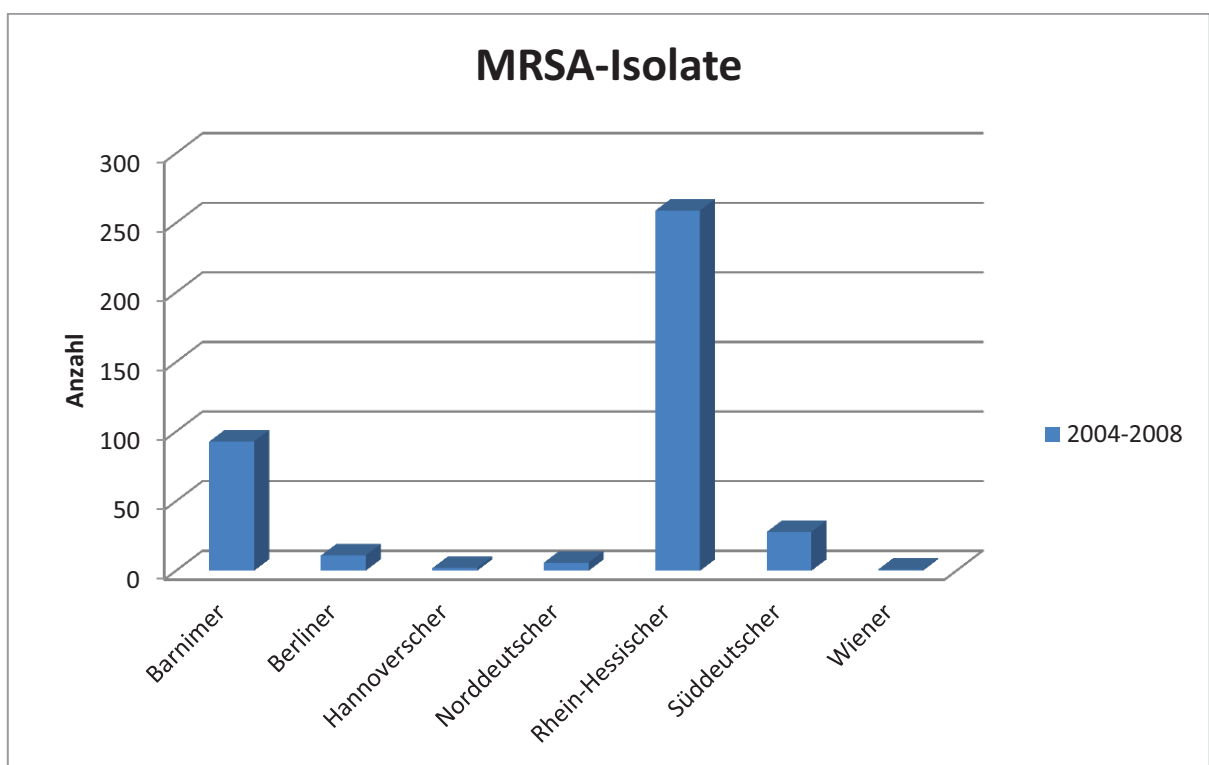


Abb. 2. Zahl der MRSA-Isolate an der Universität Rostock im gesamten Untersuchungszeitraum geordnet nach ihrer Zugehörigkeit zu bekannten deutschen Epidemioklonen.

Der Epidemiestamm Barnimer war im Jahr 2004 mit 19 Isolaten (19%), im Jahr 2006 mit 12 Isolaten (13%) und 2008 mit 62 Isolaten (35,2%) vertreten. Die Veränderung vom Jahr 2004 zu 2006 war nicht signifikant ($p=0,7$), während die Veränderungen vom Jahr 2006 zu 2008 und vom Jahr 2004 zu 2008 jeweils höchst signifikant waren ($p<0,0001$).

Der Epidemiestamm Berliner war 2004 mit 6 Isolaten (5%), 2006 mit 1 Isolat (1%) und 2008 mit 4 Isolaten (2,3%) vertreten. Dabei war die Veränderung zwischen den Jahren nicht signifikant (2004→ 2006: $p=0,14$; 2006→2008: $p=0,66$ und 2004→2008: $p=0,33$).

Der Epidemiestamm Hannoverscher war im Jahr 2004 und 2006 jeweils 1 Mal vertreten (jeweils 1%), im Jahr 2008 erfolgte kein Nachweis. Die Veränderung zwischen den Jahren war nicht signifikant (2004→ 2006: $p=1$, 2006→2008: $p=0,36$ und 2004→ 2008: $p=0,42$).

Der Norddeutsche Epidemiestamm wurde im Jahr 2004 3 Mal (2%), im Jahr 2006 1 Mal (1%) und 2008 2 Mal (1,1%) isoliert. Die Veränderung zwischen den Jahren war nicht signifikant (2004→ 2006: $p=0,64$, 2006→2008: $p=1$ und 2004→ 2008: $p=0,65$).

Der Epidemiestamm Rhein-Hessen war über alle Jahre am häufigsten vertreten, im Jahr 2004 mit 83 Isolaten (65%), im Jahr 2006 mit 74 Isolaten (76%) und 2008 mit 102 Isolaten (58%). Die zahlenmäßige Zunahme der Isolate von 2006 zu 2008 war hoch signifikant ($p=0,0024$). Die Veränderung von 2004 zu 2006 war nicht signifikant ($p=0,08$), die Veränderung über den gesamten Zeitraum von 2004 zu 2008 war ebenfalls nicht signifikant ($p=0,23$).

Der Süddeutsche Epidemiestamm wurde im Jahr 2004 15 Mal (12%), 2006 7 Mal (7%) und 2008 6 Mal (3,4%) isoliert. Dabei war die Veränderung von 2004 zu 2006 ($p=0,37$) und von 2006 zu 2008 ($p=0,22$) nicht signifikant, während von 2004 zu 2008 die Abnahme der Isolate hoch signifikant war ($p=0,0056$).

Der Epidemiestamm Wiener wurde ein einziges Mal 2006 isoliert. Das Bandenmuster stimmte nicht mit unseren Referenzstämmen überein. Das Material wurde an das „Nationale Referenzzentrum für Staphylokokken“ (RKI Wernigerode) verschickt, wo eine Typisierung stattfand.

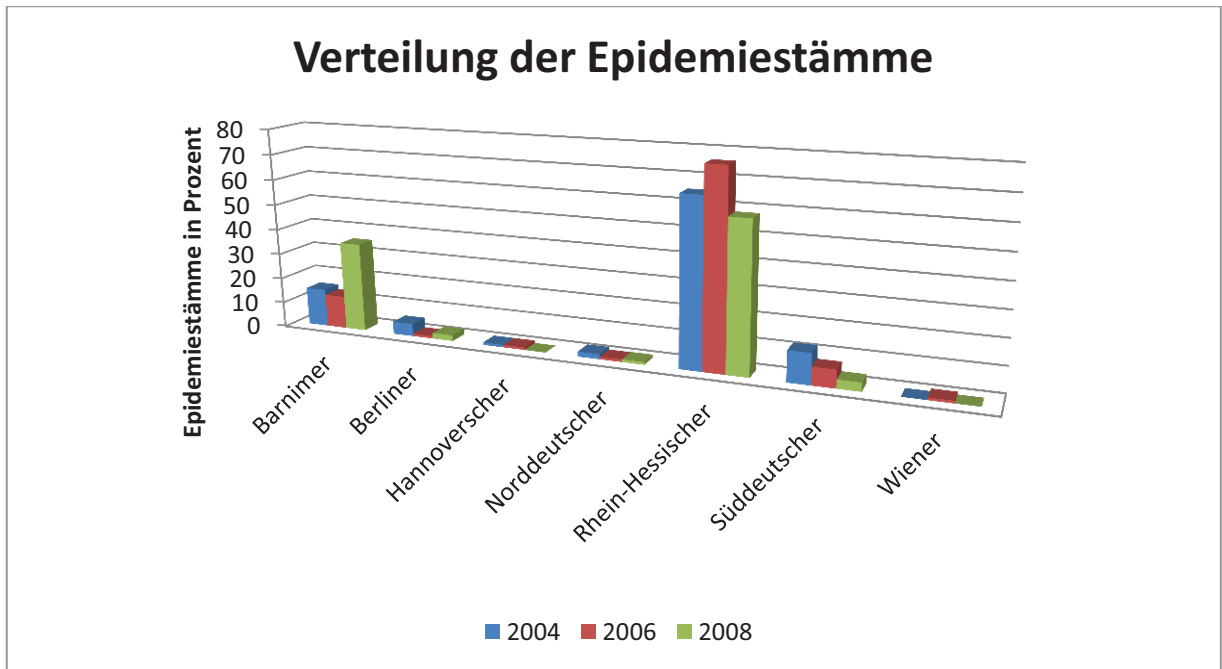


Abb. 3 Die Verteilung der bekannten deutschen MRSA-Epidemiekclone in den Jahren 2004, 2006, 2008 in Prozent am Universitätsklinikum Rostock, bezogen auf das jeweilige Jahr.

4.3 Verteilung der im Krankenhaus erworbenen bzw. außerhalb des Krankenhauses erworbenen Epidemiestämme

Zwischen den Jahren 2004-2008 gab es 200 nosokomiale (n-) MRSA-Fälle und 161 nicht-nosokomiale (nn-) MRSA-Fälle an der Universität Rostock. In 39 Fällen fand keine Zuordnung statt. Der Rhein-Hessische Klon war bei den n-MRSA Fällen mit 71% am häufigsten vertreten, es folgte der Barnimer Klon mit 17% und der Süddeutsche Klon mit 9%. Bei den nn-MRSA Fällen lag der Anteil des Barnimer Klons bei 29,8%, des Rhein-Hessischen Klons bei 58,4% und des Süddeutschen Klons bei 5,6%. Der Berliner Klon war mit 3,7% häufiger mit nn-MRSA Fällen assoziiert als mit n-MRSA-Fällen (1%).

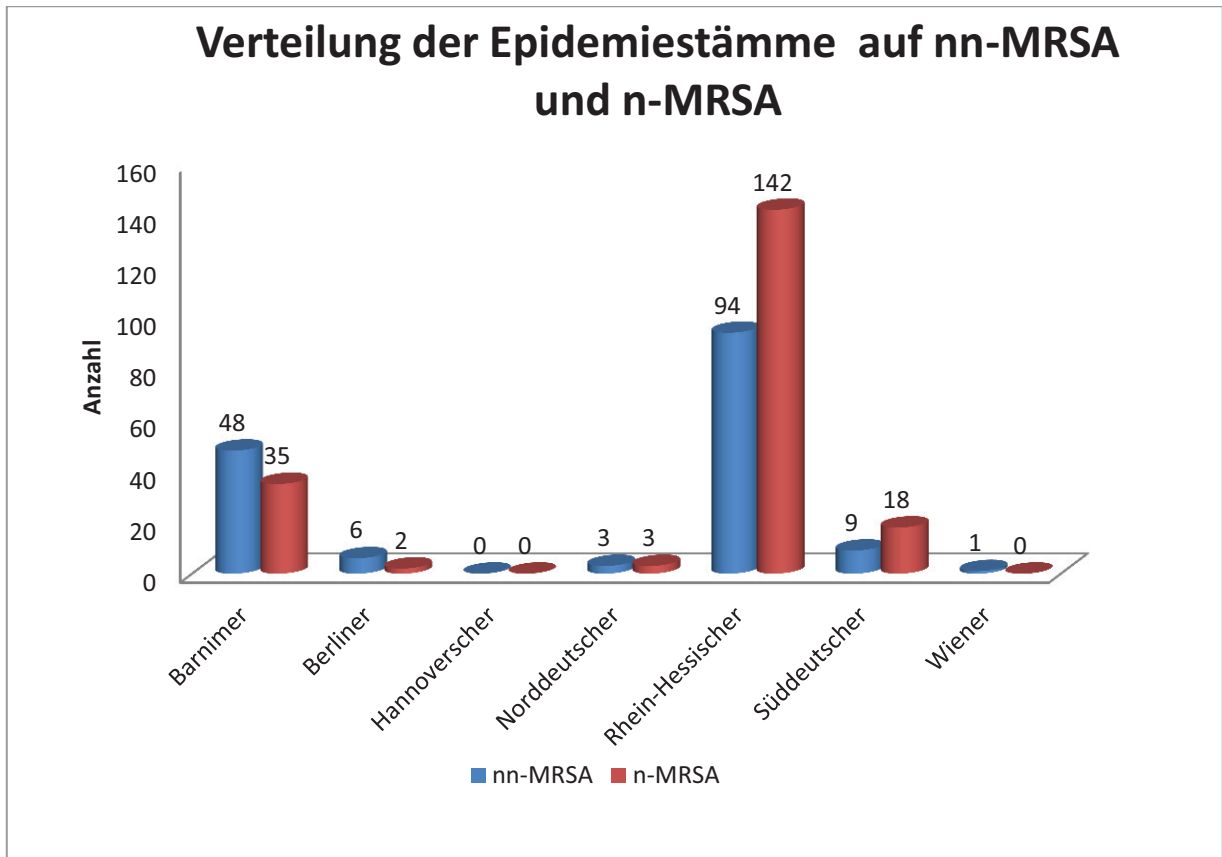


Abb. 4 Zahl der jeweiligen MRSA-Isolate der Universität Rostock im gesamten Untersuchungszeitraum unterteilt in nicht-nosokomial erworbene MRSA- (nn-MRSA) und nosokomial erworbene MRSA-Fälle (n-MRSA).

Im Jahre 2004 wurden 77 (64,2%) der MRSA Fälle im Krankenhaus erworben, im Jahre 2006 waren es 56 MRSA-Fälle (60,2%) und im Jahr 2008 67 MRSA-Fälle (45,3%). Die Anzahl der nn-MRSA Fälle entwickelte sich von 2004 mit 43 MRSA-Fällen (35,8%) über 2006 mit 37 Fällen (39,8%) bis zu 2008 mit 81 Fällen (54,7%). Es kam zur Zunahme des Anteils der Barnimer-Isolate, die außerhalb des Krankenhauses erworben wurden, von 5,8% auf 24,3%. Der Anteil des Rhein-Hessischen Klon an den im Krankenhaus erworbenen Fällen nahm von 42,5% auf 30,4% ab. Ebenfalls sank der Anteil des Süddeutschen Klon von 10% auf 2% an den n-MRSA-Fällen.

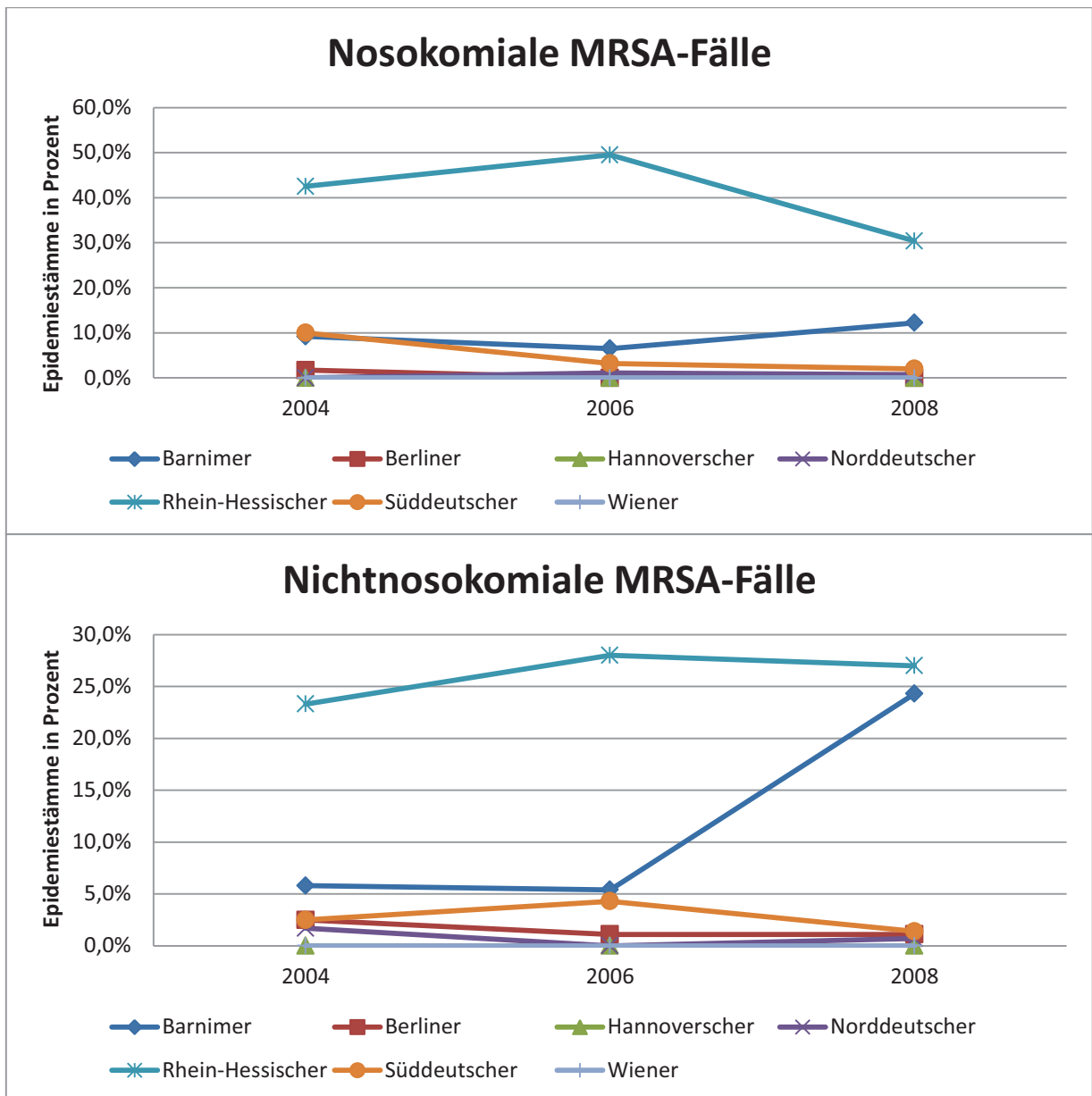


Abb. 5 a / b

Prozentuale Veränderung der Anteile der bekannten deutschen Epidemiekclone der Rostocker Universität an den nosokomial erworbenen MRSA-Fällen (5a) und den nicht-nosokomial erworbenen MRSA-Fällen (5b) zwischen den Jahren 2004, 2006 und 2008.

4.4 Patientenalter

Das Durchschnittsalter der MRSA-Patienten lag bei 64,3 Lebensjahren ($\pm 17,3$ Jahre). Das niedrigste Durchschnittsalter hatten mit dem Norddeutschen Epidemiestamm besiedelte Patienten mit 50,7 Jahren ($\pm 13,8$ Jahre) und das höchste Durchschnittsalter mit dem Epidemiestamm „Hannover“ besiedelte Patienten mit 69,5 Jahren ($\pm 0,7$ Jahren). Dabei lag bei den mit dem Hannoverschen Epidemiestamm besiedelten Patienten die Differenz des Lebensalters zum Durchschnitt knapp oberhalb der Signifikanzgrenze ($p=0,06$). Das Lebensalter der Patienten, die mit dem Epidemiestamm „Berliner“ besiedelt waren, lag bei 60,5 Jahren (± 18 Jahre). Für den Epidemiestamm Süddeutscher konnten 59,5 Jahre ($\pm 16,7$ Jahre), für den Rhein-Hessischen Epidemiestamm 64,8 Jahre ($\pm 17,3$ Jahre) und für den einen Wiener Epidemiestamm 21 Lebensjahre bestimmt werden. Insgesamt unterschied sich das Lebensalter der Patienten, die mit unterschiedlichen Epidemiestämmen besiedelt waren, nicht signifikant vom Gesamtdurchschnitt.

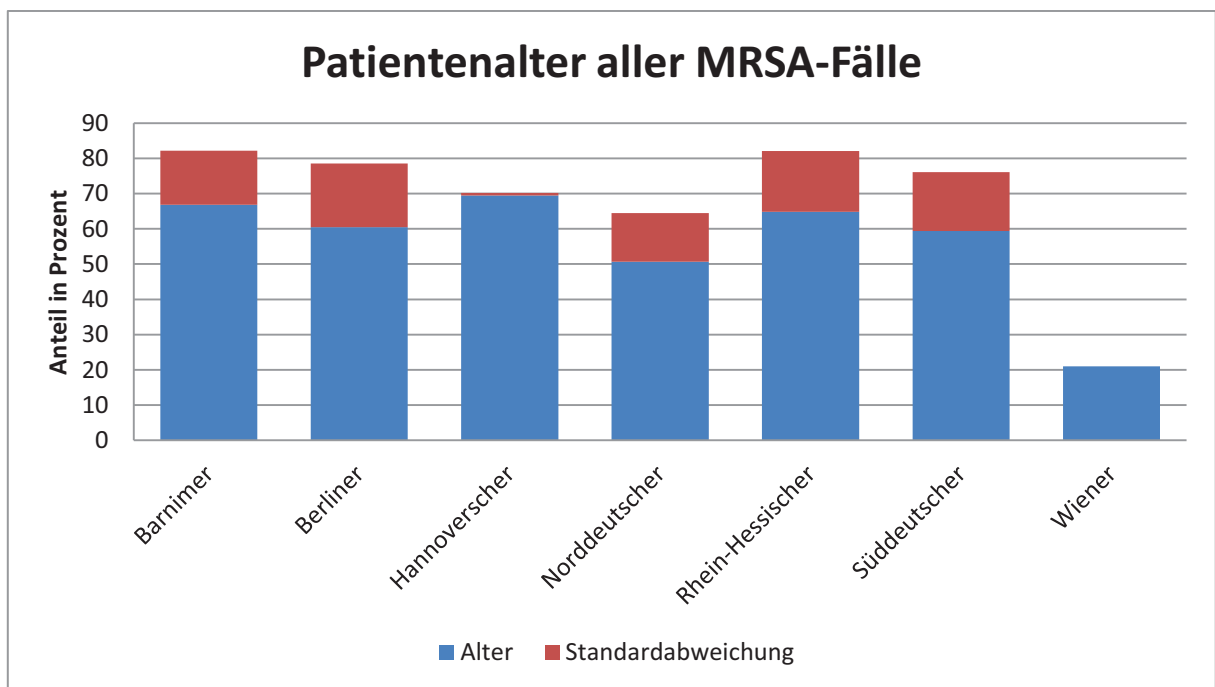


Abb. 6

Durchschnittliches Patientenalter mit Standardabweichung, in dem die bekannten deutschen Epidemioklone im gesamten Untersuchungszeitraum an der Rostocker Universität akquiriert wurden.

4.5 Verteilung des Geschlechtes der Patienten

Es gab keine Affinität eines Klon für das männliche oder weibliche Geschlecht. Im einzelnen war beim Barnimer das weibliche Geschlecht mit 42% ($p=0,22$), beim Berliner mit 28% ($p=0,34$), beim Hannoverschen mit 50% ($p=1$), beim Norddeutschen mit 17% ($p=0,42$), beim Süddeutschen mit 30% ($p=0,42$), beim Rhein-Hessischen mit 36% ($p=1$) und beim Wiener mit 0% ($p=1$) vertreten.

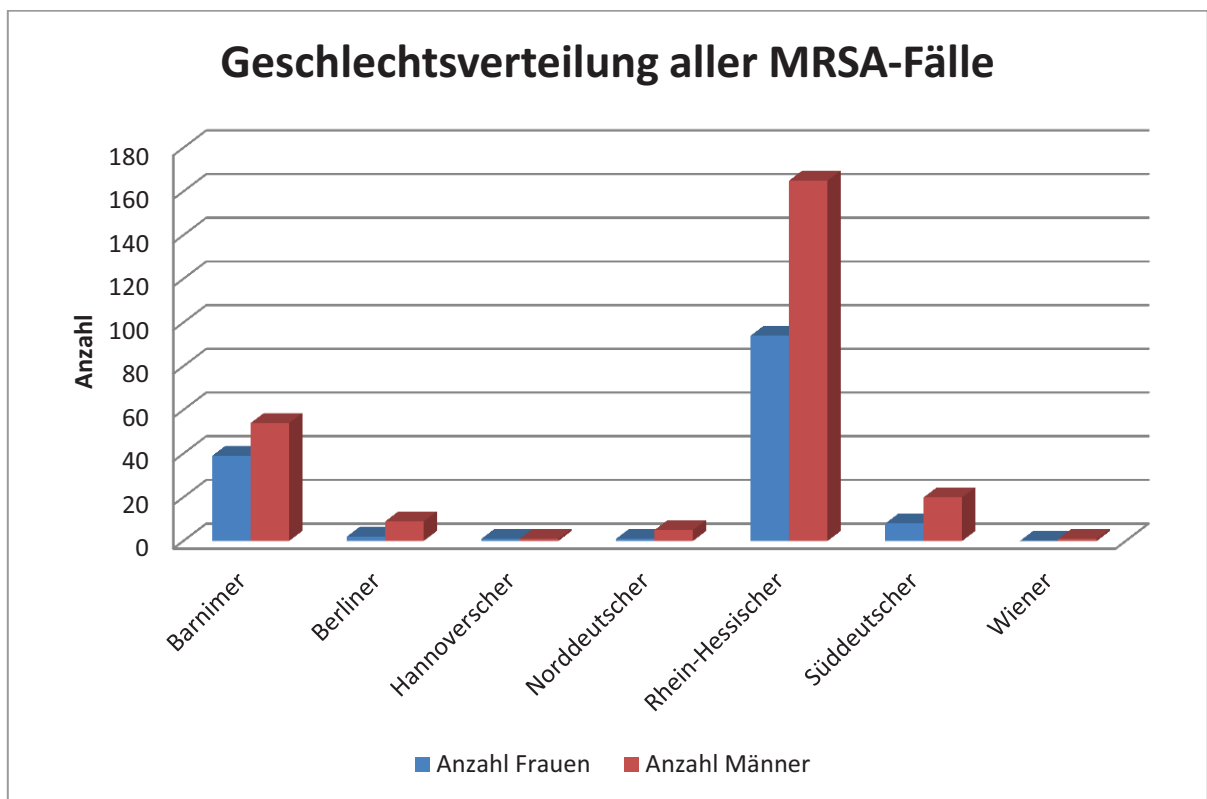


Abb. 7

Anzahl der Frauen und Anzahl der Männer mit MRSA-Isolaten des jeweiligen bekannten deutschen Epidemiekons im gesamten Untersuchungszeitraum an der Universität Rostock.

4.6 Verteilung der Klone zwischen Universität Rostock und Peripherie

Sechs Isolate wurden in Proben von externen Einsendern nachgewiesen. Dabei handelte es sich in einem Fall um den Klon Barnimer (0,3%) und in den restlichen 5 Fällen (1,2%) um den Klon Rhein-Hessischer. Somit wurden 98,5% der Isolate in der Universität Rostock nachgewiesen und 1,5% in der Peripherie. Es gab keinen Hinweis für ein bevorzugtes Auftreten bestimmter Klone außerhalb des Universitätsklinikums.

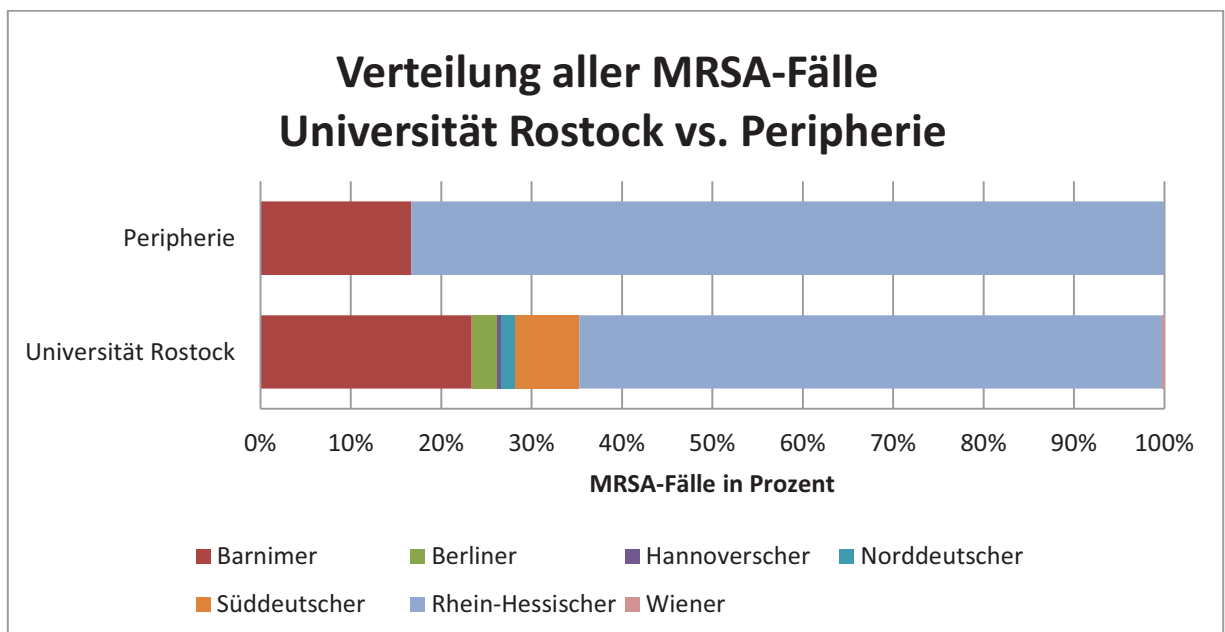


Abb. 8

Verteilung aller MRSA-Isolate der bekannten deutschen Epidemiekclone auf die von außerhalb mit MRSA zuverlegten Patienten (Peripherie) und die Patienten mit erstmaligen Nachweis von MRSA an der Universität Rostock im gesamten Untersuchungszeitraum.

4.7 Verteilung der MRSA-Fälle auf Fachbereiche

Am häufigsten wurden MRSA-Stämme von Patienten auf den Stationen der Inneren Medizin isoliert. Danach folgten die Intensivstationen und die chirurgischen Stationen. Ein geringerer Anteil trat auf den übrigen Stationen auf. In absteigender Reihenfolge kam es zu weiteren Häufungen von MRSA auf Stationen der Strahlentherapie, Urologie, Neurologie, Dermatologie, HNO, Kinder- und Jugendklinik, MKG, sowie Orthopädie und Psychiatrie.

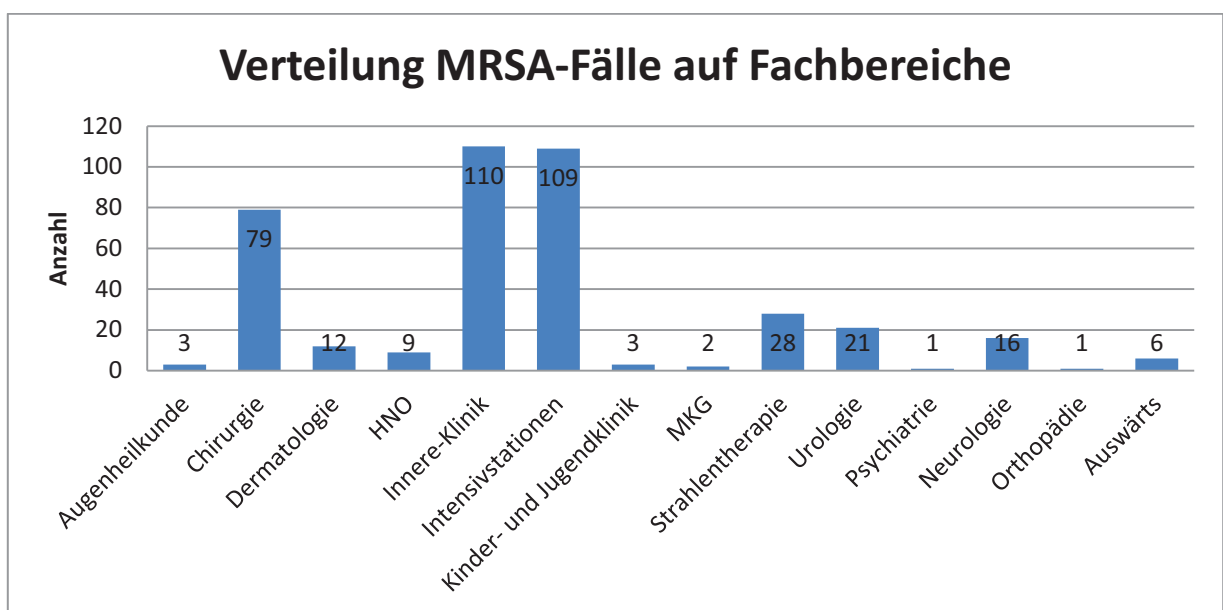


Abb. 9

Zahl der MRSA-Isolate verteilt auf die einzelnen Stationen der Fachbereiche im gesamten Untersuchungszeitraum an der Universität Rostock.

Der Anteil an der Gesamtzahl nachgewiesener MRSA nahm auf internistischen Stationen zwischen 2004 und 2008 von 20 % auf 32 % signifikant zu ($p=0,036$), während auf den chirurgischen Stationen ein signifikanter Rückgang von 29,9 % auf 14 % zu beobachten war ($p=0,002$). Der MRSA-Anteil auf den Intensivstationen nahm von 33% auf 21% signifikant ab ($p=0,024$). Auf den Stationen für Strahlentherapie zeigte sich eine signifikante Zunahme von 3,9% auf 18% ($p=0,048$) und ebenfalls verzeichneten die neurologischen Stationen eine höchst signifikante Zunahme von 0% auf 10,2% ($p<0,001$). Ebenfalls traten die ersten peripher nachgewiesenen MRSA-Fälle zunächst einmalig 2006 auf und machten im Jahr 2008

3% aus, wobei dies nicht signifikant war. Die übrigen Bereiche boten keine signifikante Veränderung der MRSA-Fälle zwischen 2004 und 2008.

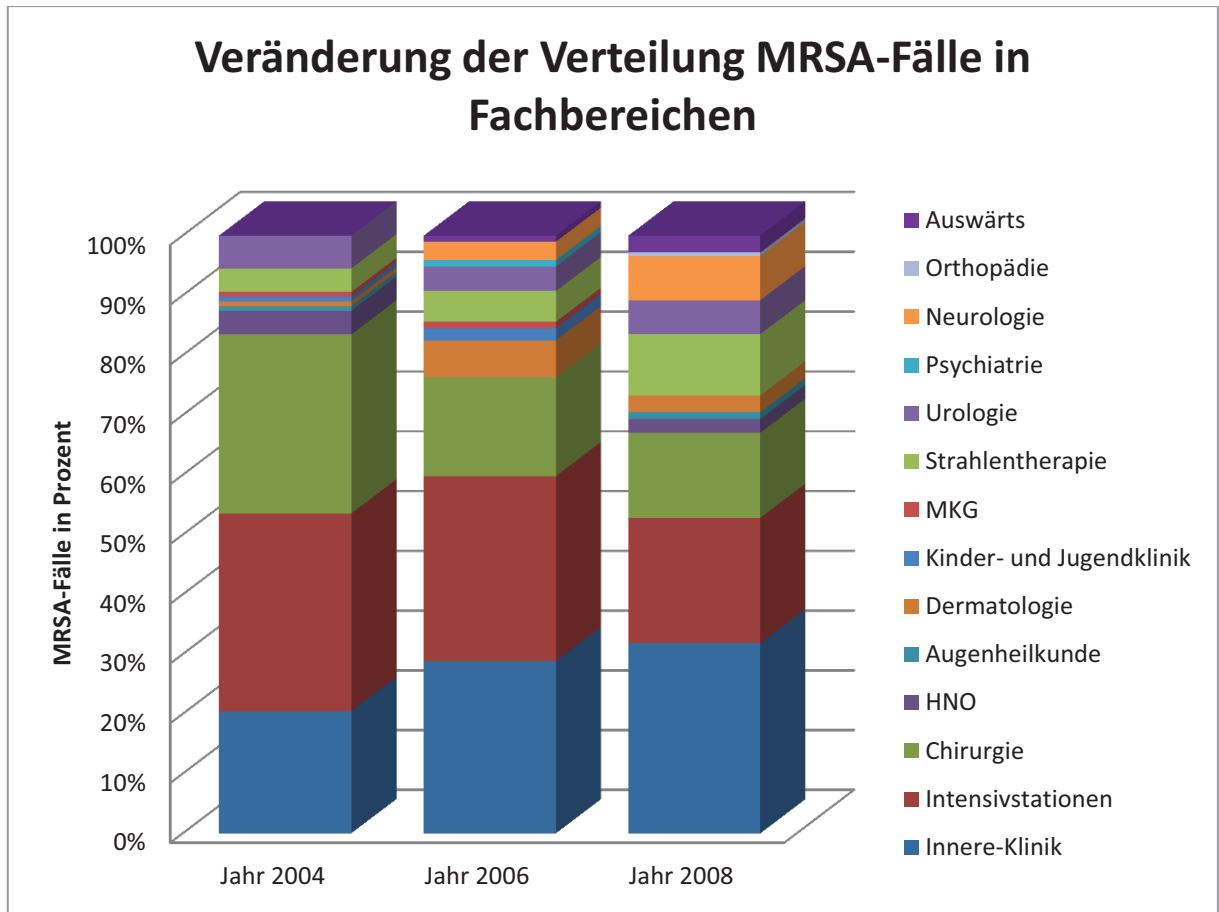


Abb. 10

Prozentuale Verteilung der MRSA-Fälle auf die Fachbereiche der Universität Rostock in den Jahren 2004, 2006, 2008 und Darstellung der zeitlichen Veränderung der MRSA-Fälle auf den Stationen der Fachbereiche.

Auf den Stationen der Inneren Klinik kam es beim Epidemiekolon Barnimer zwischen 2004 und 2008 zu einer hoch signifikanten Zunahme von 2% auf 11,2% ($p < 0,001$). Die anderen Fachbereiche verzeichneten keine signifikanten Veränderungen beim Anteil des Barnimer-Klons.

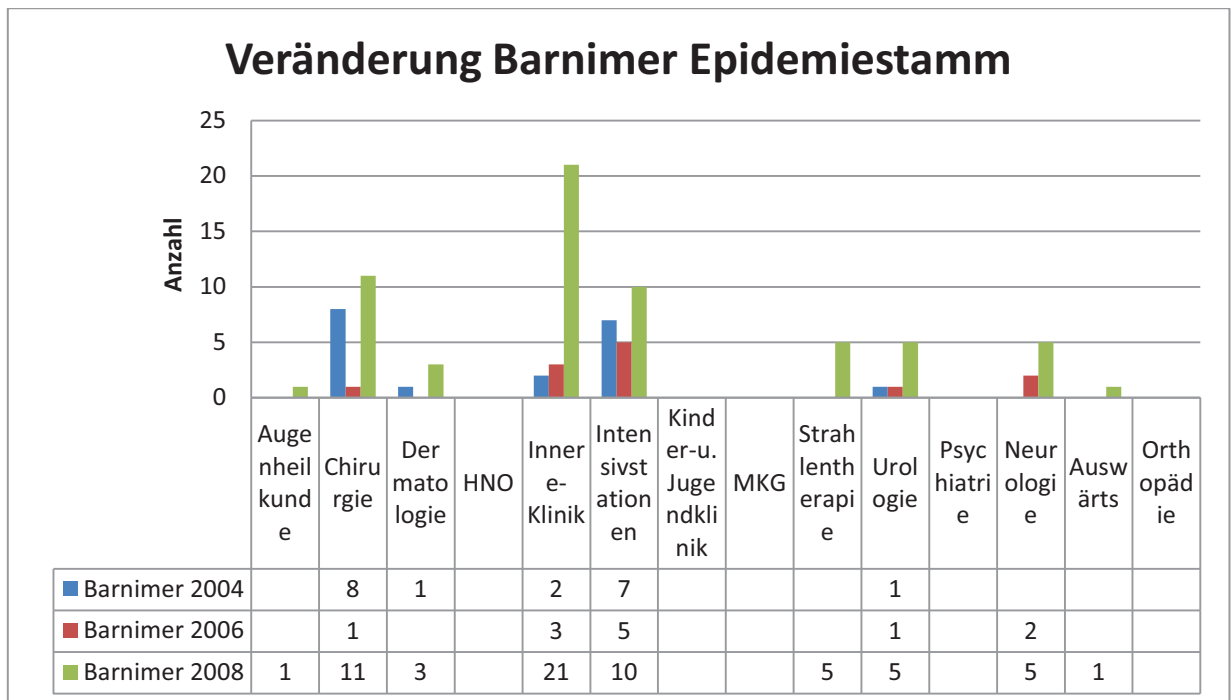


Abb. 11

Anzahl der dem Barnimer Epidemiestamm zugehörigen MRSA-Isolate an den Fachbereichen der Universitätsklinik Rostock in den Jahren 2004, 2006 und 2008.

Beim Rhein-Hessischen Klon gab es auf den chirurgischen Stationen eine signifikante Abnahme zwischen 2004 und 2006 von 20,4% auf 10,3% ($p=0,028$) und von 2004 zu 2008 auf 7,4% ($p=0,0015$). Die neurologischen Stationen verzeichneten eine signifikante Zunahme des Rhein-Hessischen Klon zwischen 2004 und 2008 von 0% auf 4,5% ($p=0,023$). Die prozentualen Veränderungen auf allen übrigen Stationen waren nicht signifikant.

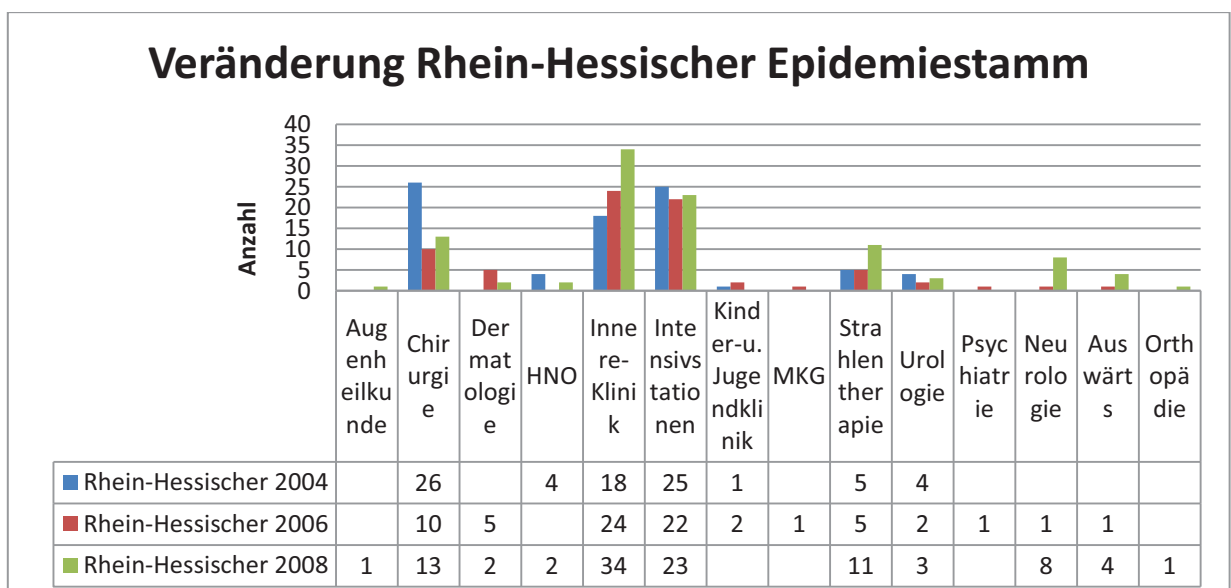


Abb. 12

Anzahl der dem Rhein-Hessischen Epidemieklon zugehörigen MRSA-Isolate an den Fachbereichen der Universitätsklinik Rostock in den Jahren 2004, 2006 und 2008.

Die Anzahl der Nachweise des Süddeutschen Klon hat sich zwischen 2004 und 2006 auf den chirurgischen Stationen nicht signifikant verändert. Zwischen 2006 und 2008 kam es dann zum signifikanten Abfall von 3% auf 0% ($p=0,044$). Auf den Stationen der Intensivmedizin kam es zwischen 2004 und 2008 zum signifikanten Abfall von 6,3% auf 1,1% ($p=0,019$). Die Veränderungen auf den übrigen Stationen waren nicht signifikant.

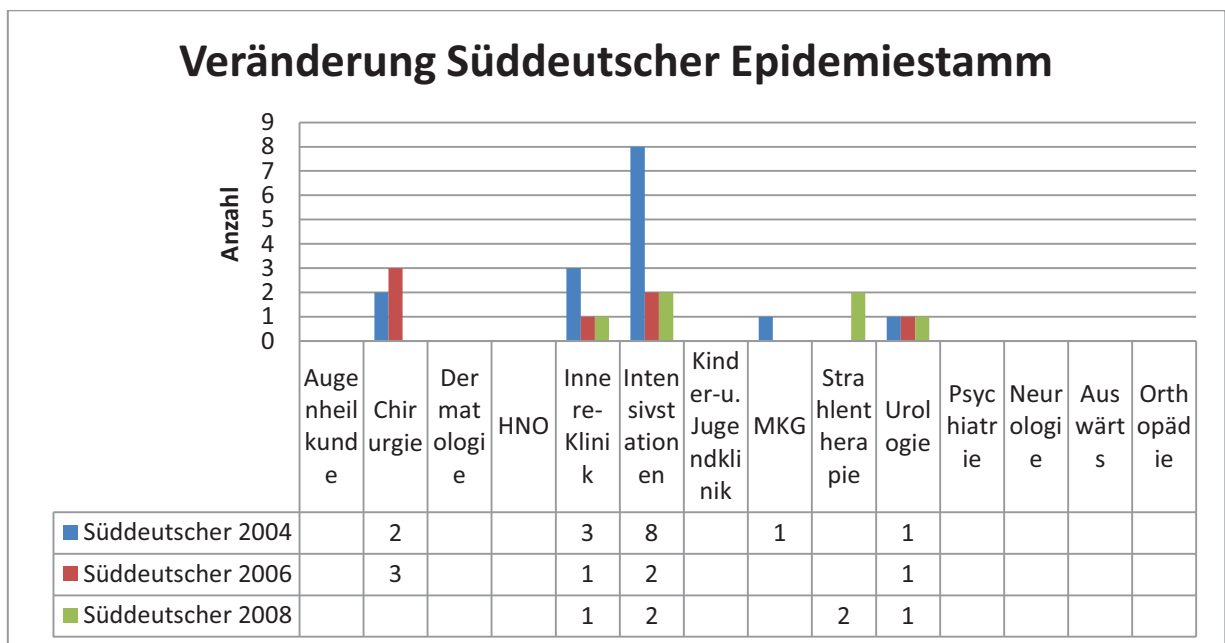


Abb. 13

Anzahl der dem Süddeutschen Epidemieklon zugehörigen MRSA-Isolate an den Fachbereichen der Universitätsklinik Rostock in den Jahren 2004, 2006 und 2008.

Die übrigen Klone zeigten keine signifikanten Veränderungen in ihrer Auftretenshäufigkeit.

4.8 Nachgewiesene Ausbruchsgeschehen

Als Ausbruch definierten wir ein Auftreten von ≥ 3 identischen Stämmen innerhalb eines Monats auf einer Station. Dabei durfte ein Stamm maximal einmal nicht nosokomial aufgetreten sein.

Im Jahr 2004 gab es insgesamt 4 Ausbrüche ausschließlich mit dem Rhein-Hessischen-Klon auf 3 chirurgischen Stationen. Der erste Ausbruch war auf der chirurgischen Station 1 mit 6 Fällen im März zu beobachten. Im Juni waren auf derselben Station 4 Fälle aufgetreten. Im August waren auf der chirurgischen Station 2 3 Fälle festzustellen und im Oktober waren es auf der chirurgischen Station 3 4 Fälle. In den folgenden Jahren waren auf den chirurgischen Stationen keine weiteren Ausbrüche zu beobachten.

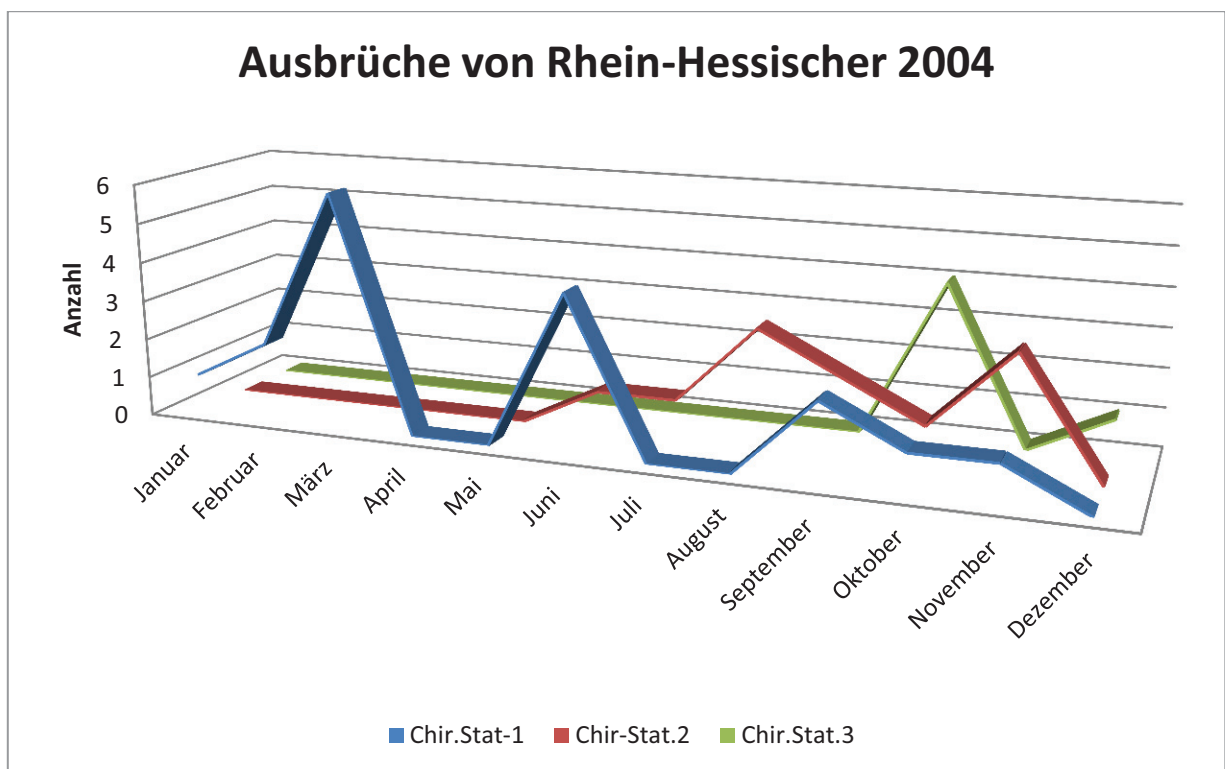


Abb. 14 Anzahl der dem Rhein-Hessischen Epidemieklon zugehörigen MRSA-Isolate im monatlichen Verlauf des Jahres 2004 auf 3 unterschiedlichen chirurgischen Stationen der Universitätsklinik Rostock.

Im Jahre 2006 gab es insgesamt 3 Ausbrüche, die wir auf der internistischen Station 1 und einer Intensivstation beobachten konnten. Der erste Ausbruch fand mit 3 Fällen im Mai 2006 auf der internistischen Station 1 statt und wurde gefolgt von 4 Fällen im Juni 2006 auf der gleichen Station. Im August 2006 konnten 3 Rhein-Hessen-Klone auf einer Intensivstation nachgewiesen werden.

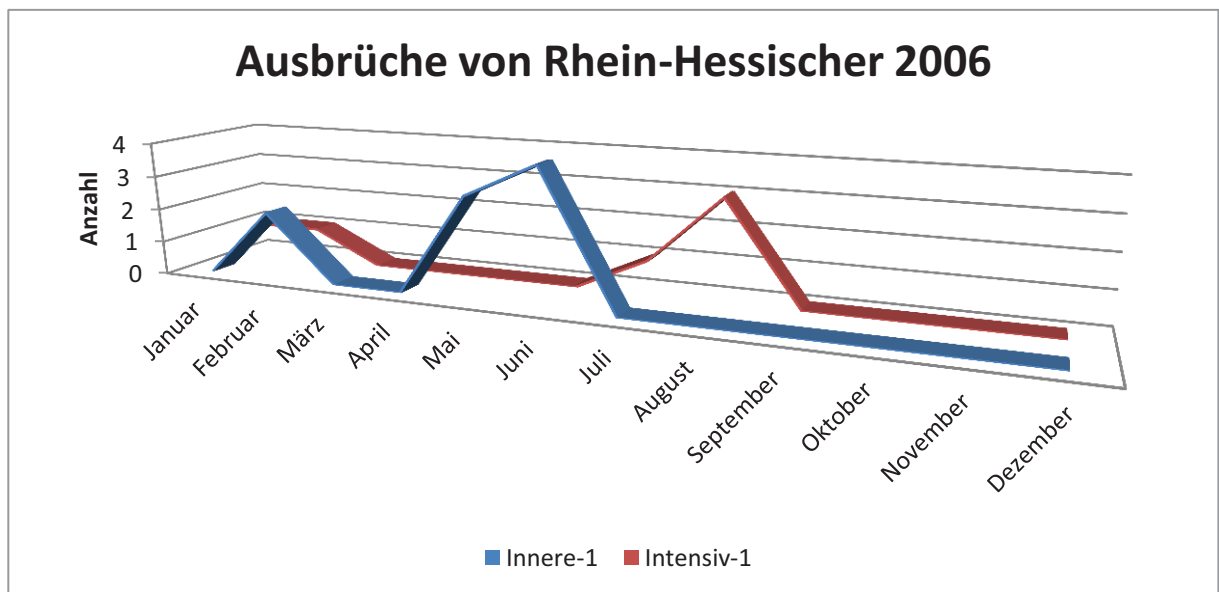


Abb. 15

Zahl der dem Rhein-Hessischen Epidemieklon zugehörigen MRSA-Isolate im monatlichen Verlauf des Jahres 2006 auf einer Station der Inneren Medizin und einer Station der Intensivmedizin der Universitätsklinik Rostock.

Im Jahre 2008 wurden 2 Ausbrüche mit jeweils dem Rhein-Hessischen Klon und dem Barnimer Klon registriert. Der Ausbruch mit dem Rhein-Hessischen Klon war im Februar 2008 auf einer internistischen Station aufgetreten. Im September desselben Jahres gab es 3 Fälle mit Rhein-Hessen-Klon auf der internistischen Station. Da 2 davon nicht-nosokomial erworben waren, wurde nicht von einem Ausbruch ausgegangen. Im Juni 2008 gab es 1 Ausbruch mit 3 Barnimer Isolaten auf einer strahlentherapeutischen Station. Das war auch der einzige Ausbruch in den Jahren außerhalb der chirurgischen, internistischen und intensivmedizinischen Stationen.

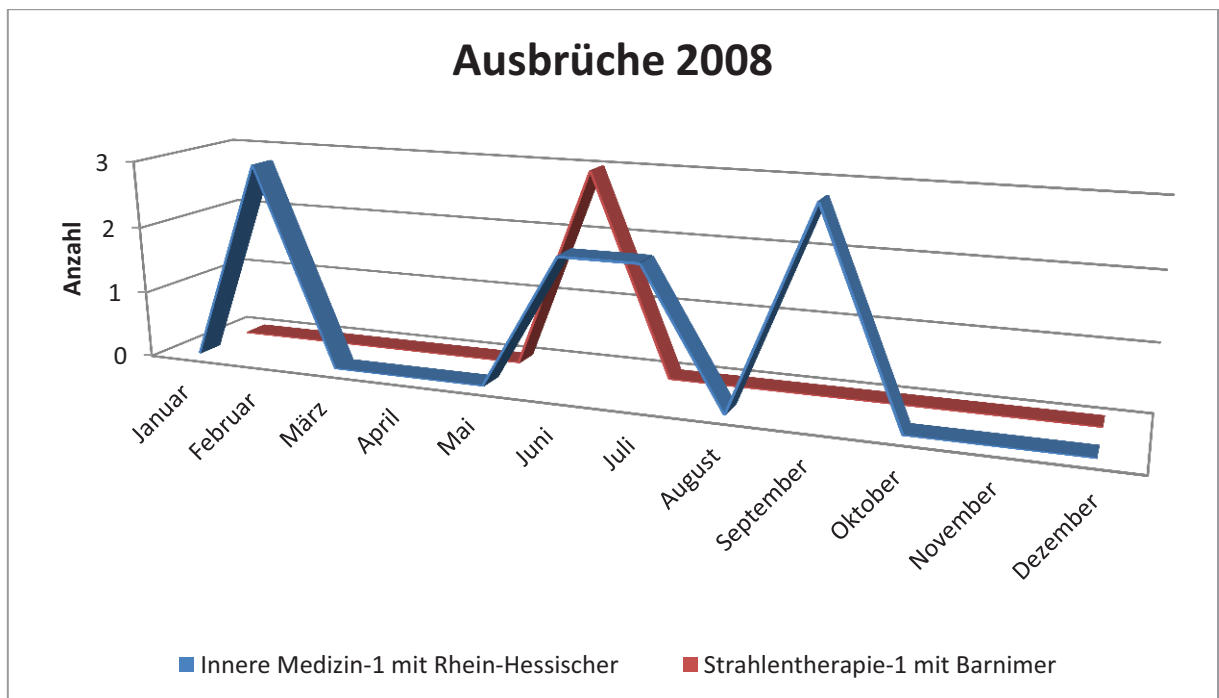


Abb. 16

Zahl der dem Rhein-Hessischen Epidemiekolon zugehörigen MRSA-Isolate auf einer Station der Inneren Medizin und Zahl der dem Barnimer Epidemiestamm zugehörigen MRSA-Isolate auf einer Station der Strahlentherapie im monatlichen Verlauf des Jahres 2008 an der Universitätsklinik Rostock.

4.9 Durchschnittliche Einsendezeit

Als durchschnittliche Einsendezeit betrachteten wir die Zeit von der Abnahme der Probe bis zum Eintreffen in unserem Labor. Die durchschnittliche Einsendezeit aller Jahrgänge und Stationen lag bei 6:22 Stunden (382 min), die Standardabweichung war 8:17 Stunden (497 min). Im Jahre 2004 wurden von allen Einsendungen 83 Angaben zur Einsendezeit gemacht (65%). Im Jahre 2006 waren es 72 Angaben (74%) und im Jahre 2008 140 Angaben (80%). Die Einsendezeiten der Kliniken für HNO, Strahlentherapie und Neurologie waren signifikant kleiner ($p < 0,001$). Die Einsendezeiten aller anderen Einrichtungen unterschieden sich nicht signifikant vom Durchschnitt. Die durchschnittliche Veränderung der Einsendezeit zwischen den Jahren war ebenfalls nicht signifikant.

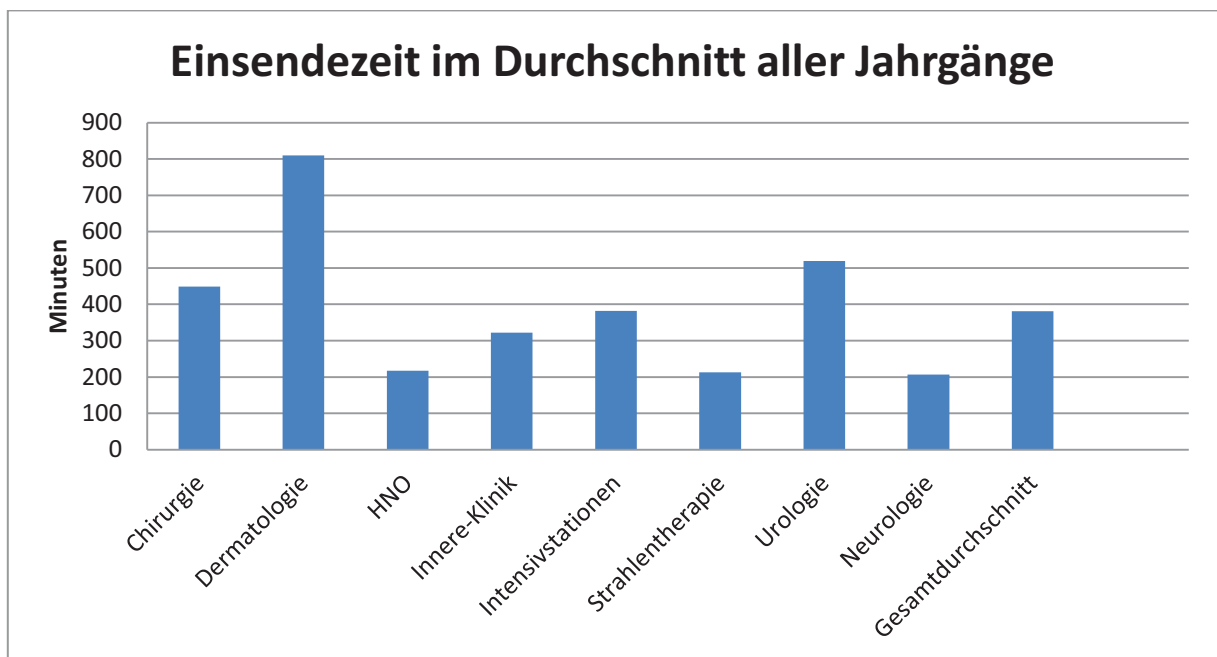


Abb. 17

Durchschnittliche Einsendezeit aller Proben, die nachfolgend als MRSA-tragend identifiziert wurden, gemessen in Minuten vom Abnahmezeitpunkt bis zum Eintreffen im Labor. Zusammengefasst werden die Stationen der Fachbereiche der Universitätsklinik Rostock im gesamten Untersuchungszeitraum.

4.10 Zeitdauer bis zur Befundmitteilung

Nach Eingang des Materials in unserem Labor erfolgte die Anzucht auf festen Nährböden. Die Dauer zwischen dem Eingang des Materials im Labor und der Befundmitteilung wurde ausgewertet. Es zeigte sich eine mittlere Zeitdauer von 2,6 Tagen in den Jahren 2004 bis 2008 (Standardabweichung 1,2 Tage). Im Verlauf der Jahre hat sich der mittlere Zeitbedarf zwischen dem Eintreffen des Materials und der Verdachtsmitteilung an die Kliniker nicht signifikant verändert.

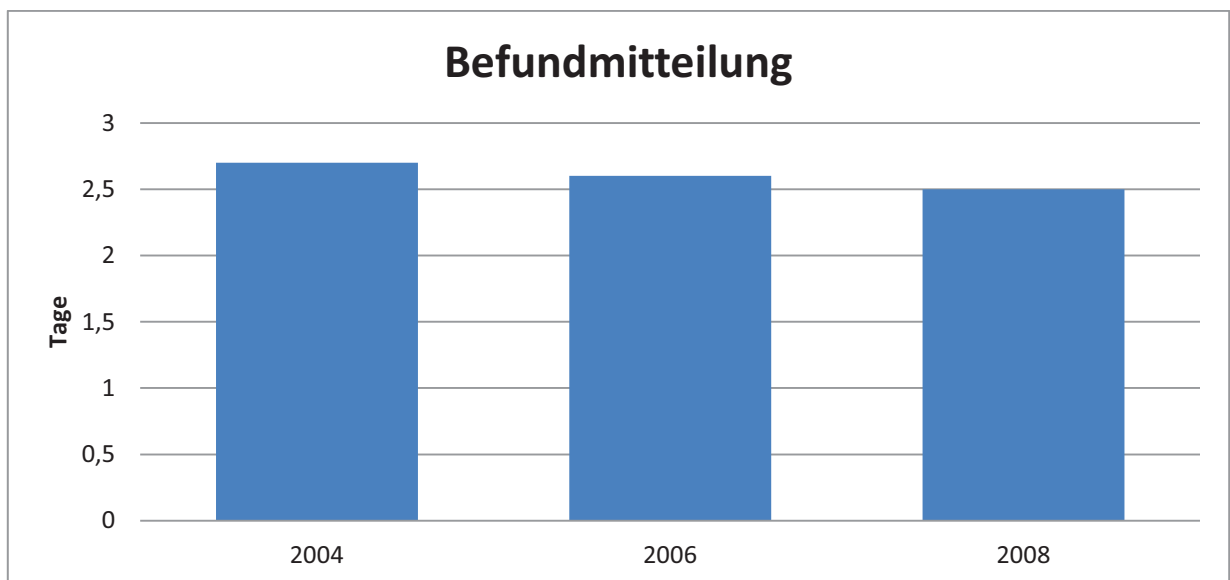


Abb. 18

Die Zeitdauer in Tagen bis zur Befundmitteilung an die Kliniker gemessen vom Zeitpunkt des Eingangs der Probe bis zur mündlichen oder schriftlichen Übermittlung eines positiven MRSA-Befunds, unterteilt auf die Jahre 2004, 2006 und 2008. Verdachtsmitteilung eines positiven MRSA-Befunds gehen in die Auswertung ein.

4.11 Vorkommen der einzelnen Klone in verschiedenen Materialarten

Zwischen den Jahren 2004 und 2008 wurden Einsendungen aus 34 unterschiedlichen Materialarten verarbeitet. Zur statistischen Auswertung der Materialabhängigkeit der Klone wurden die Materialien zu Gruppen zusammengefasst. Es wurden 7 Gruppen gebildet (siehe Tab.1). In allen Materialgruppen war am häufigsten der Rhein-Hessische Klon mit Anteilen zwischen 59% und 70,5% vertreten. In einer Probe aus dem Liquor konnte der Rhein-Hessische Klon nachgewiesen werden. Der Rhein-Hessische Klon dominierte signifikant in den Materialgruppen Haut-/Schleimhautabstrich/entsprechende Sekrete ($p=0,03$) und im respiratorischen Material ($p=0,02$). In der Weichteilgruppe (Abdominalabstrich, operativer Abstrich, Perikard, Pleura) waren der Norddeutsche Klon mit 9% und der Süddeutsche Klon (18,8%) signifikant überdurchschnittlich häufig vertreten ($p<0,01$). Es fanden sich keine weiteren signifikanten Affinitäten zu bestimmten Materialien.

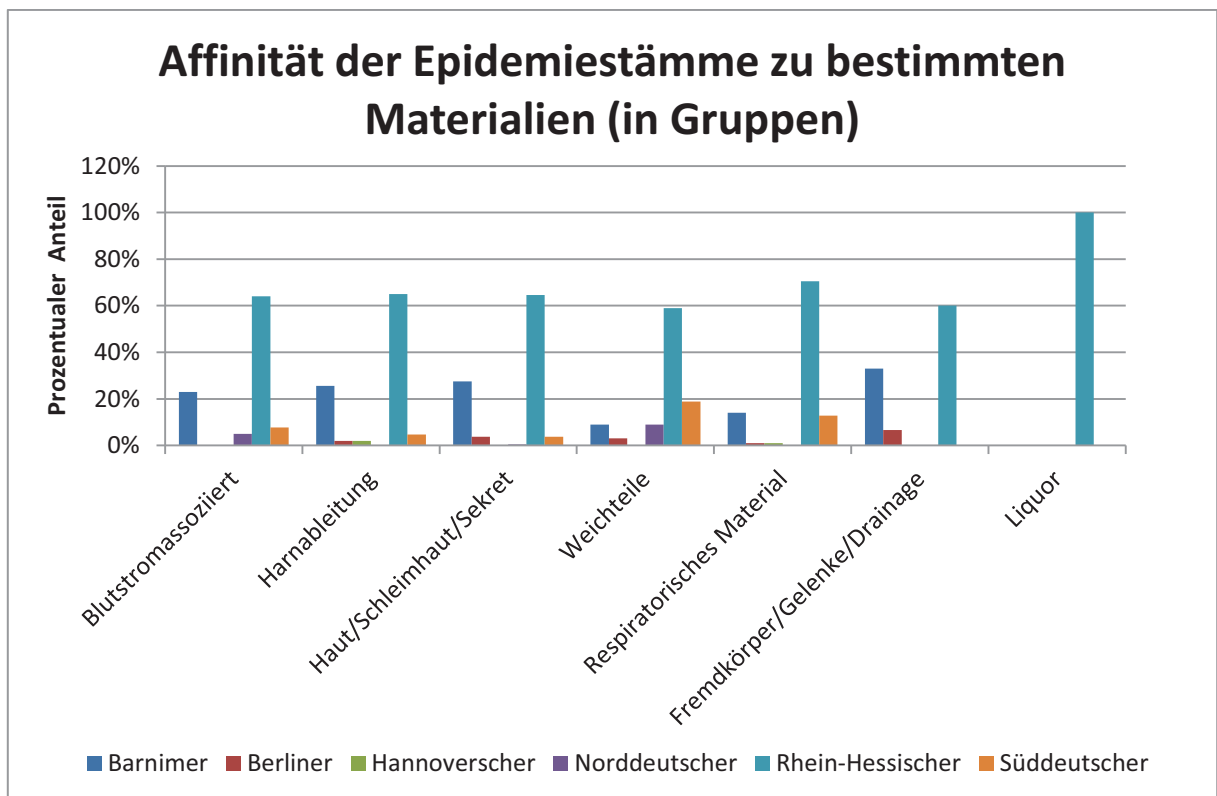


Abb. 19

Darstellung der Affinität der bekannten deutschen Epidemiekclone zu bestimmten Materialien. Die Materialien werden zu Gruppen zusammengefasst wie in Tab. 1 dargestellt. Der prozentuale Anteil der Epidemiekclone bezieht sich jeweils auf eine Materialgruppe.

Materialgruppe	Material
Blutstromassoziiert	venöse Katheter, Katheterspitze, Blutkultur, Herzklappe
Harnableitung	Blasenpunktionsurin, Conduiturin, Dauerkatheterurin, Katheterurin, PCN-Urin, Urin
Haut/Schleimhäute/Sekrete	Abszess, Analabstrich, Hautabstrich, Muttermilch, Nasenabstrich, Kornea, Wundabstrich, Geschlechtsorgane, Mundschleimhautabstrich, Rachenabstrich
Weichteile	Weichteile, Abdominalabstrich, operativer Abstrich, Perikard, Pleura
Respiratorisches Material	BAL, Bronchialsekret, Sputum, Trachealsekret, Trachealabstrich
Fremdkörper/Gelenke/Drainagesekret	
Liquor	

Tab. 1

Zusammenfassung der einzelnen Materialien zu Materialgruppen.

4.12 Vorkommen der einzelnen Epidemiekclone in niedriger bzw. hoher Keimzahl

Die Kulturen wurde hinsichtlich ihres Vorkommens in hoher bzw. niedriger Keimzahl untersucht. Das Vorkommen in hoher Keimzahl wird in quantitativen Untersuchungen als > 100.000 koloniebildenden Keimzahlen (colony forming units cfu) / ml und in semiquantitativen Untersuchungen als „reichlich“ und „massenhaft“ definiert. Dagegen wird das Vorkommen in niedriger Keimzahl als Nachweis von < 100.000 / ml, „vereinzelt“ oder „mäßig viel“ definiert.

Alle Klone waren überwiegend in hoher Keimzahl vertreten, außer der Norddeutsche- und Wiener Klon. Das Vorkommen der Klone in hoher bzw. niedriger Keimzahl war über den Untersuchungszeitraum nicht signifikant verändert.

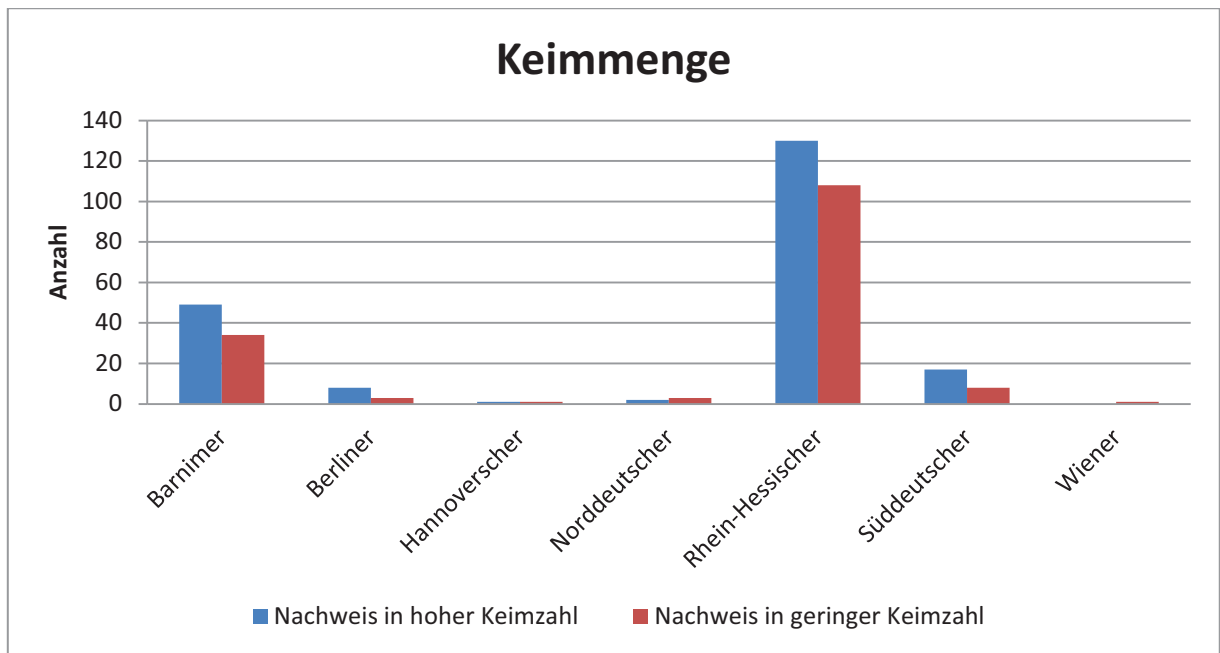


Abb. 20

Zahl der MRSA-Isolate, geordnet nach der Zugehörigkeit zu den bekannten deutschen Epidemieklonen, entsprechend ihres Vorkommens in hoher bzw. niedriger Keimmenge, dargestellt über den gesamten Untersuchungszeitraum an der Universitätsklinik Rostock.

4.13 Vorkommen der Epidemiekclone in Rein- bzw. Mischkulturen.

Die angelegten Kulturen wurden hinsichtlich des MRSA-Vorkommens in Rein- bzw. Mischkulturen untersucht. Es zeigte sich bei allen Kulturen ein überwiegendes Vorkommen in Reinkulturen außer bei den Hannoverschen und Wiener Klonen. Es gab keine Signifikanz für ein Wachstum einer Kultur in Mischkulturen. Die Ergebnisse sind nur eingeschränkt interpretierbar, da nicht durchgehend zwischen Anzucht auf Selektivnährmedien und nichtselektiven Medien unterschieden werden konnte.

Der Anteil der Mischkulturen lag bei 56%. In den Mischkulturen wurde am häufigsten gramnegative Keime (44%), dann grampositive Keime (29%), Standortflora (18%) und Pilze (7%) nachgewiesen.

Innerhalb von Mischkulturen wurde der Rhein-Hessen Klon im Vergleich zu den anderen signifikant ($p=0,02$) häufiger mit Standortflora nachgewiesen, während die anderen Klone nicht signifikant häufiger mit grampositiven- und gramnegativen Erregern, Pilzen und Standortflora isoliert wurden.

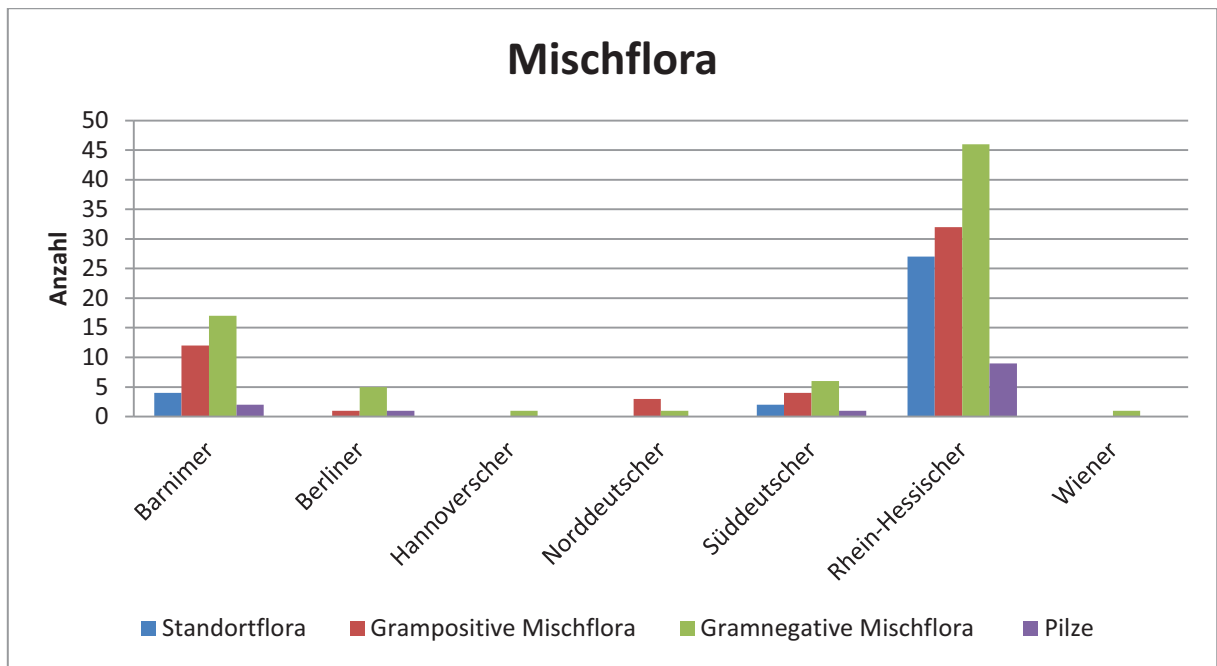


Abb. 21

Zahl der MRSA-Isolate, geordnet nach Zugehörigkeit zu den bekannten deutschen Epidemieklonen, mit begleitender Mischflora, dargestellt über den gesamten Untersuchungszeitraum an der Universitätsklinik Rostock. Die Mischflora wird unterteilt Standortflora, grampositive bzw. gramnegative Mischflora und Pilze.

4.14 Antibiotikaresistenzen

Es wird zunächst das Antibiotikaresistenzmuster aller MRSA-Stämme betrachtet und dann auf die einzelnen Klone eingegangen. Die Empfindlichkeit aller Stämme gegen Gyrasehemmer lag bei 3%, Erythromycin und Clindamycin jeweils bei 14%, Tobramycin bei 42%, Gentamicin bei 77%, Fosfomycin bei 96%, Tetracyclin und Fusidinsäure jeweils bei 97%, Rifampicin bei 98%, Cotrimoxazol bei 99%, Teicoplanin, Vancomycin und Linezolid jeweils bei 100%.

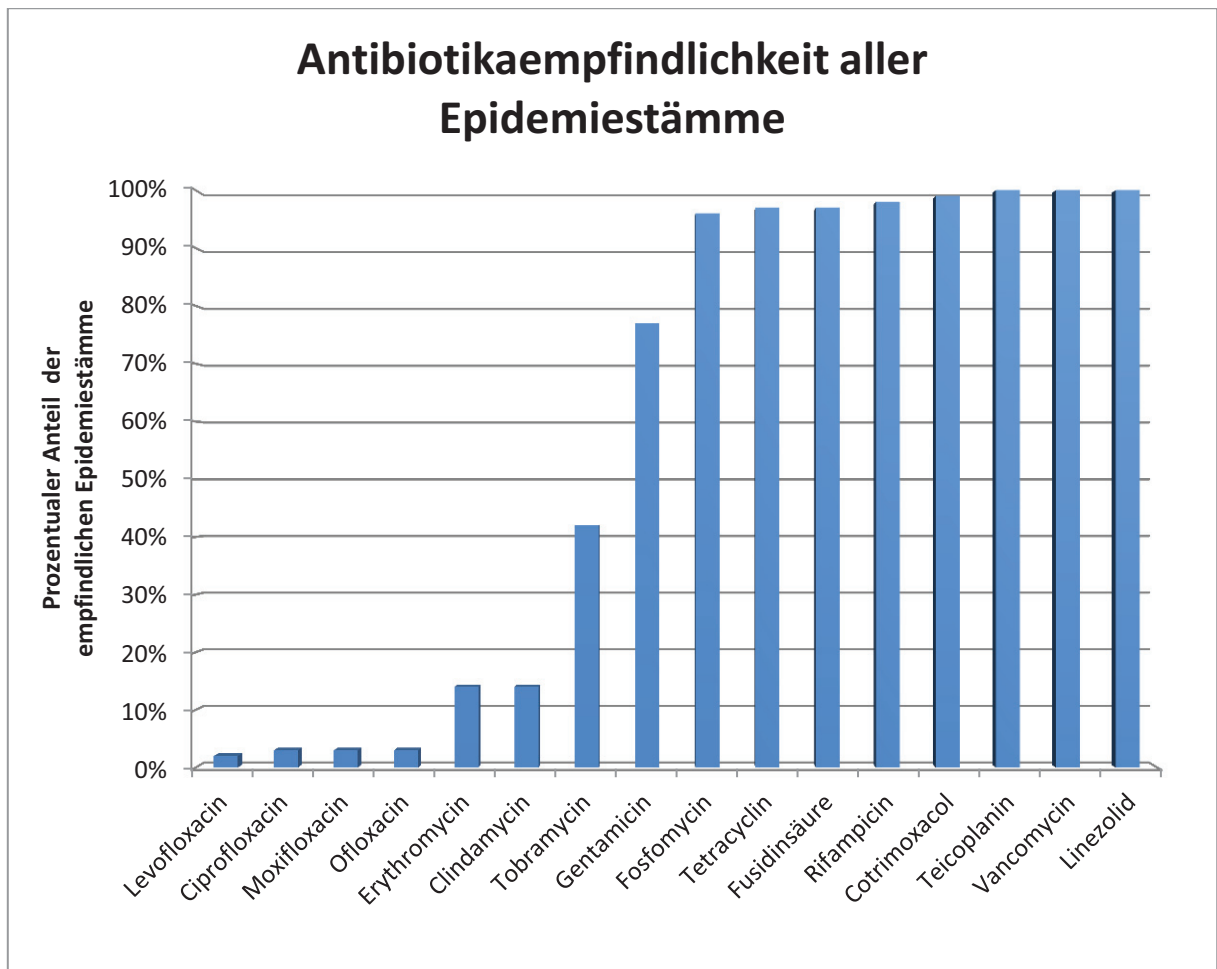


Abb. 22

Prozentualer Anteil der Empfindlichkeit der MRSA-Isolate im gesamten Untersuchungszeitraum an der Universitätsklinik Rostock gegenüber verschiedenen Antibiotika, geordnet nach zunehmender Antibiotikaempfindlichkeit.

Von den Gyrasehemmern wurden Ciprofloxacin, Levofloxacin, Moxifloxacin und 2004 auch noch Ofloxacin untersucht. Für die am häufigsten vorkommenden Rhein-Hessischen und Barnimer Klon lag die Resistenz zwischen 98-100%. Für den Süddeutschen Klon lag die Resistenzrate bei 86-90%, den Norddeutsche Klon bei 50-67%, den Berliner bei 80-100%. Der eine auf Levofloxacin getestete Hannoversche Stamm war empfindlich (0% Resistenzrate), der einzige Wienerstamm gegenüber allen Gyrasehemmern resistent.

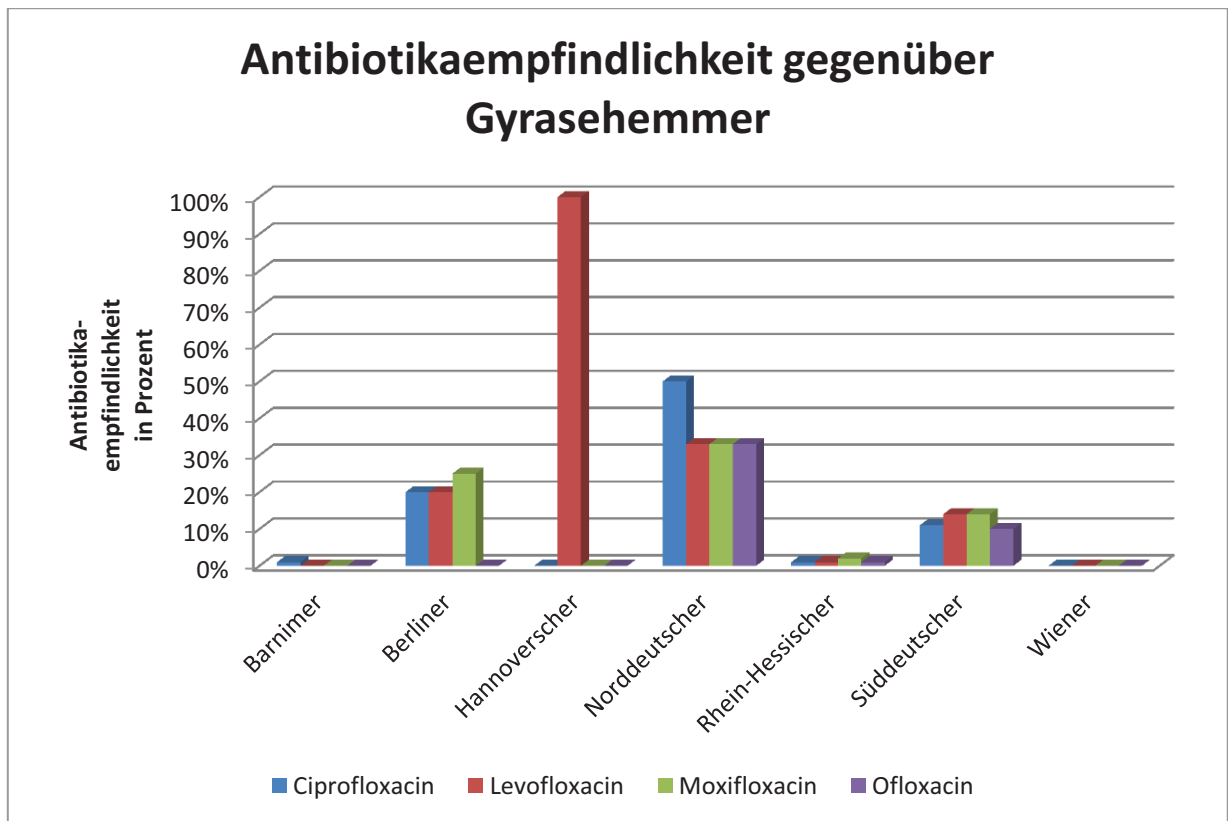


Abb. 23

Antibiotikaempfindlichkeit (in Prozent) der bekannten deutschen Epidemiekclone gegenüber Gyrasehemmern im gesamten Untersuchungszeitraum an der Universitätsklinik Rostock.

Die MRSA-Stämme wurden auf die Resistenz gegenüber den Aminoglykosiden überprüft. Die Empfindlichkeit gegenüber Gentamicin und Tobramycin zeigte zwischen den Klonen eine große Variabilität. Der Rhein-Hessische Klon war gegenüber Gentamicin mit 77% häufiger empfindlich als gegenüber Tobramycin mit 23%. Der Barnimer war zu 71-79% etwa gleich empfindlich auf beide Antibiotika, während der Süddeutsche Klon eine niedrige Empfindlichkeit gegenüber Aminoglykosiden von 7-13% zeigte. Dagegen zeigte der Berliner Klon eine hohe Empfindlichkeit gegenüber Tobramycin (100%), wobei die Gentamicin-Empfindlichkeit bei 45% lag. Der Norddeutsche Klon war zu 50% gegenüber Tobramycin und zu 67% gegenüber Gentamicin empfindlich. Die beiden Hannoverschen Stämme waren gegenüber Gentamicin zu 100% empfindlich und gegenüber Tobramycin beide resistent.

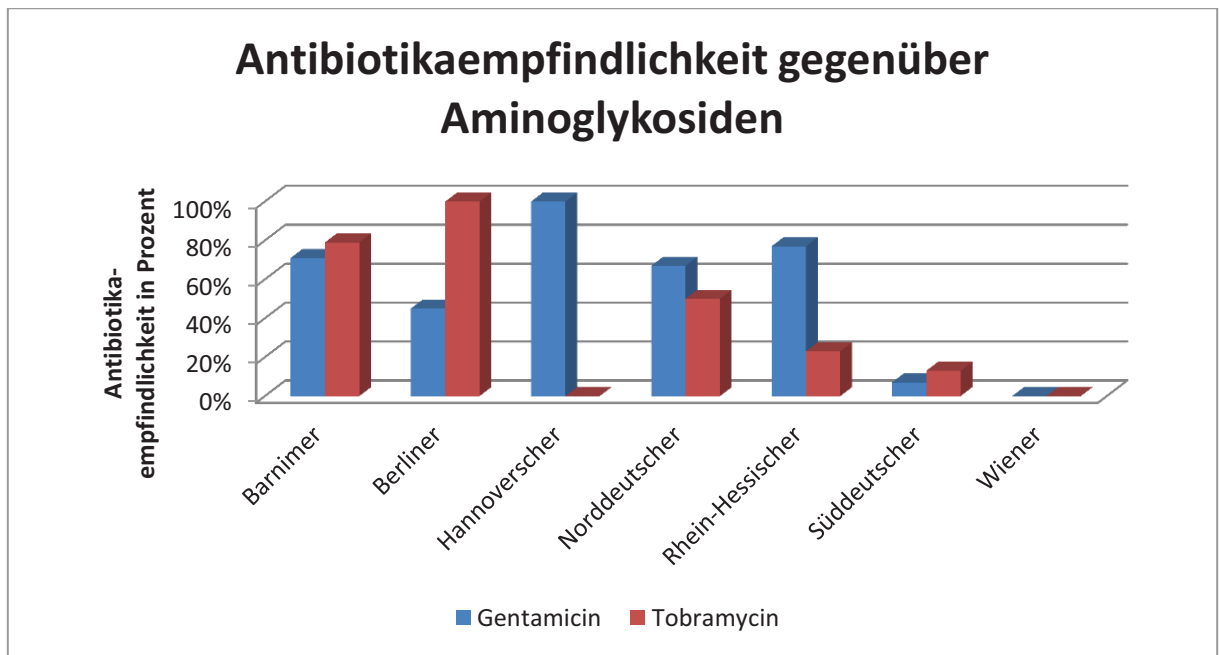


Abb. 24

Antibiotikaempfindlichkeit (in Prozent) der bekannten deutschen Epidemiekclone gegenüber den Aminoglykosiden Gentamicin und Tobramycin im gesamten Untersuchungszeitraum an der Universitätsklinik Rostock.

Die Gentamicinempfindlichkeit der nachgewiesenen MRSA nahm im Untersuchungszeitraum von 60% auf 82% zu, während sich die Resistenzsituation hinsichtlich anderer Antibiotika nicht veränderte. Parallel war eine Abnahme der Verwendung von Aminoglykosiden von 2004 bis 2006 um 51 % zu verzeichnen. 2008 kam es zum Anstieg des Umsatzes an Gentamicin, die Empfindlichkeit der Isolate blieb unverändert. Die Zunahme der Sensibilität von 2004 zu 2008 war beim Rhein-Hessischen Klon, Barnimer und Berliner höchst signifikant ($p < 0,001$), beim Süddeutschen Klon zeigte sich keine signifikante Veränderung, der Hannoversche und Norddeutsche Klon blieb jeweils resistent.

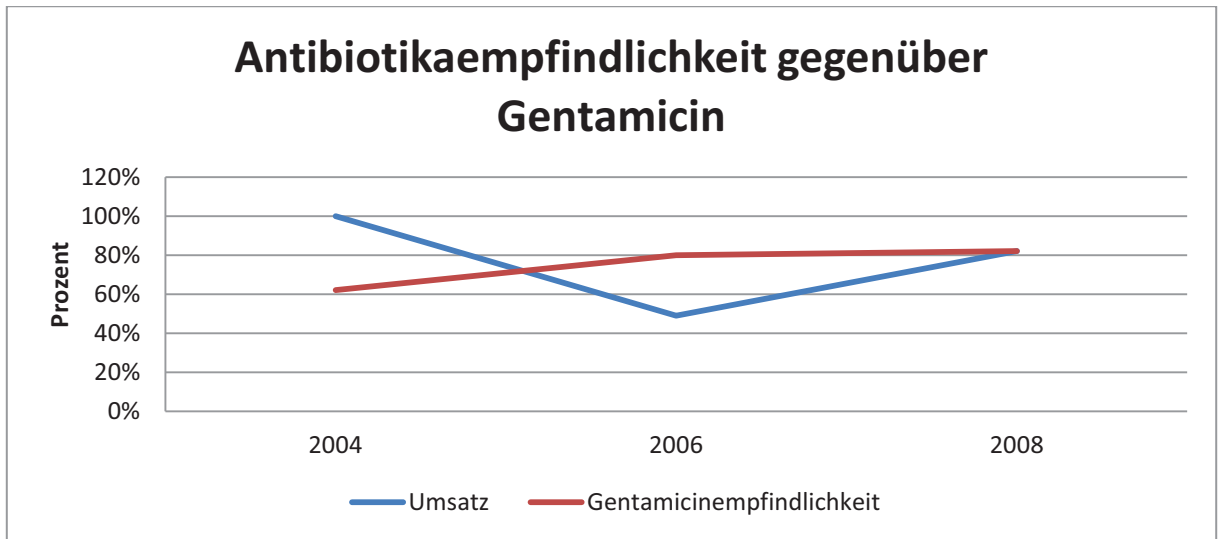


Abb. 25

Verlauf der Antibiotikaempfindlichkeit gegenüber Gentamicin bei den bekannten deutschen Epidemieklonen an der Universitätsklinik Rostock zwischen den Jahren 2004, 2006 und 2008. Darstellung des Umsatzes von Gentamicin in Prozent, registriert durch die Apotheke der Rostocker Universitätsklinik im Verlauf der Jahre des Untersuchungszeitraums.

Beim Makrolid Erythromycin und dem Lincosamid Clindamycin zeigten sich bei allen Klonen Parallelen. Der Rhein-Hessische, der Süddeutsche und der Wiener Klon zeigten eine sehr geringe Empfindlichkeit von 0-5% für beide Antibiotika, während Barnimer, Berliner, Hannoverscher und Norddeutscher Klon teils empfindlich (33-50%) waren.

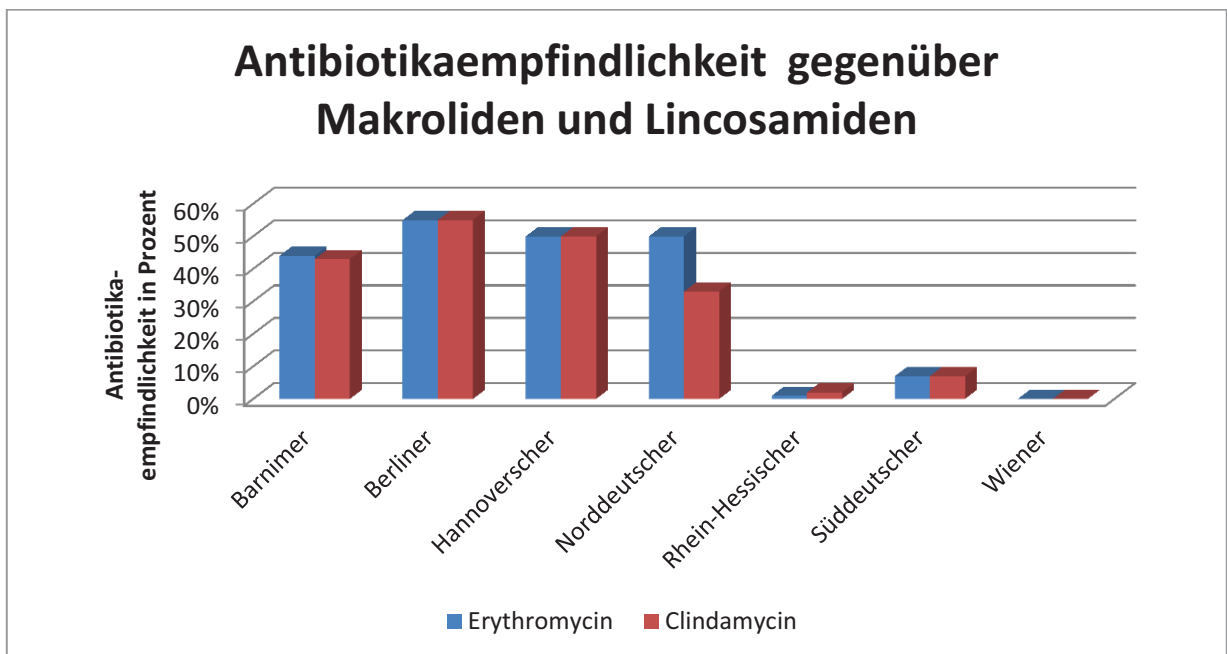


Abb. 26

Antibiotikaempfindlichkeit (in Prozent) der bekannten deutschen Epidemiekclone gegenüber dem Makrolid Erythromycin und dem Lincosamid Clindamycin im gesamten Untersuchungszeitraum an der Universitätsklinik Rostock.

Die Empfindlichkeit gegenüber Fosfomycin und Fusidinsäure war mit 96-100% hoch. Die Ausnahme bildete der Nordeutsche Klon mit einer Empfindlichkeit von 83% für beide Antibiotika. Der Süddeutsche Klon war gegenüber Fusidinsäure hoch empfindlich (96%), während Fosfomycin gegen 71% dieser Isolate wirksam war. Die beiden Hannoverschen Stämme waren gegenüber Fosfomycin (0% Empfindlichkeit) und gegenüber Fusidinsäure zu 50% resistent. Der Wiener Stamm hat war nur gegenüber Fosfomycin empfindlich.

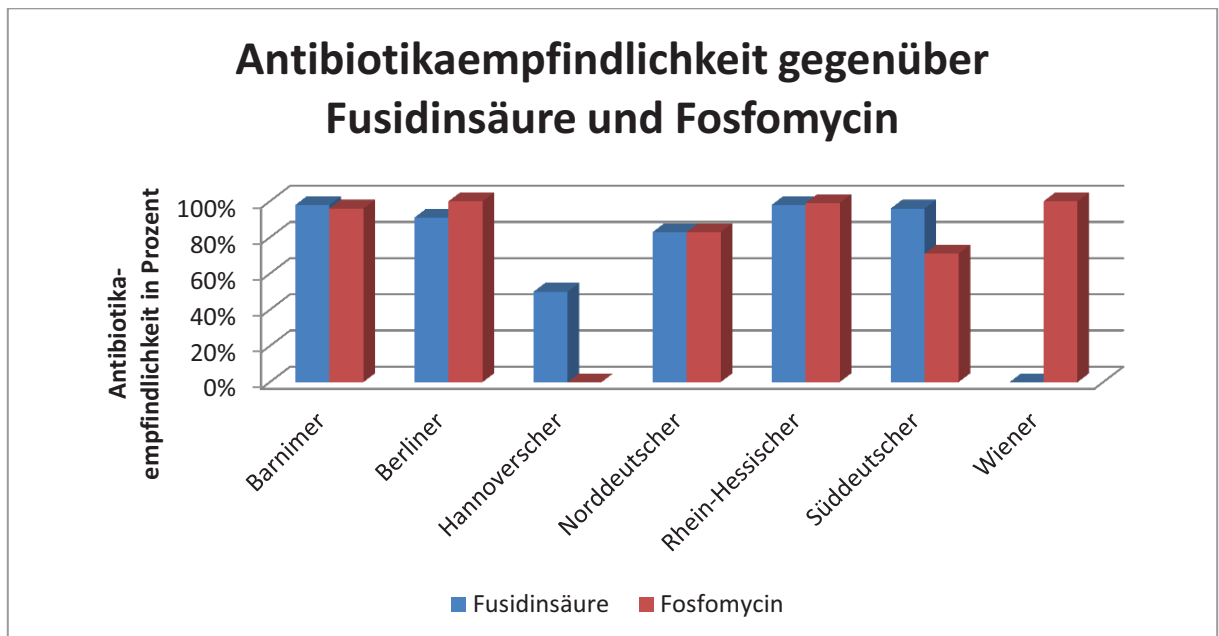


Abb. 27

Antibiotikaempfindlichkeit (in Prozent) der bekannten deutschen Epidemiekclone gegenüber Fusidinsäure und Fosfomycin im gesamten Untersuchungszeitraum an der Universitätsklinik Rostock.

Gegenüber Cotrimoxazol waren alle Klonen mit Ausnahme des Wiener Klons zu 100% empfindlich. Tetracyclin zeigte bei den meisten Klonen mit 98-100% eine sehr gute Wirksamkeit, war jedoch beim Süddeutschen Klon nur in 77% und beim Norddeutschen Klon in 67% der Fälle wirksam.

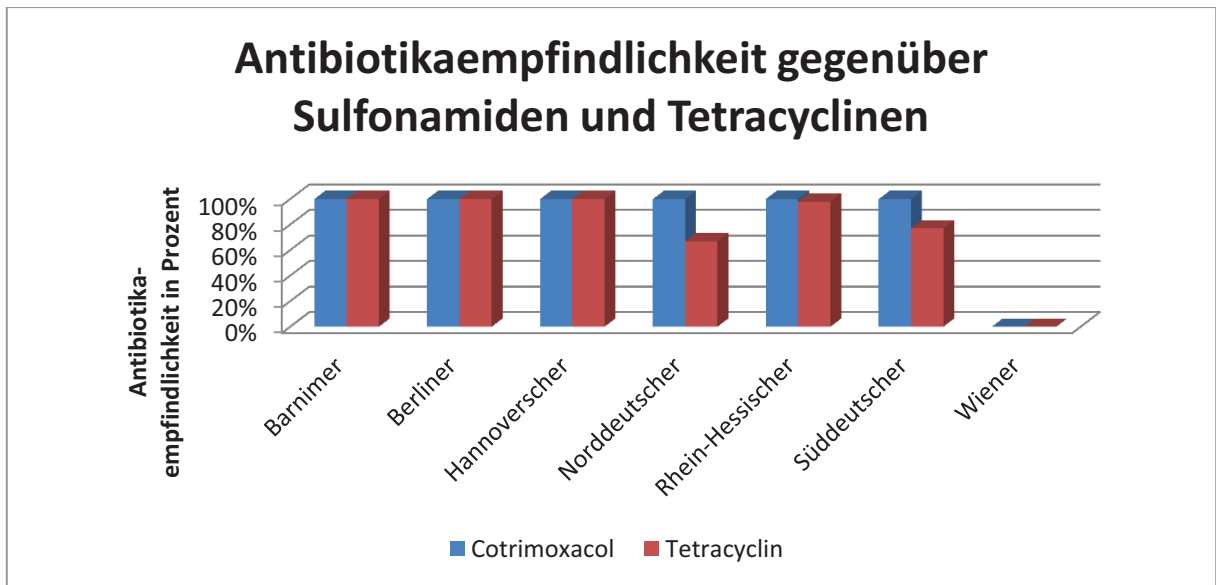


Abb. 28

Antibiotikaempfindlichkeit (in Prozent) der bekannten deutschen Epidemiekclone gegenüber Cotrimoxazol und Tetracyclin im gesamten Untersuchungszeitraum an der Universitätsklinik Rostock.

Die beiden Glykopeptide Teicoplanin und Vancomycin waren bei allen Stämmen zu 100% wirksam.

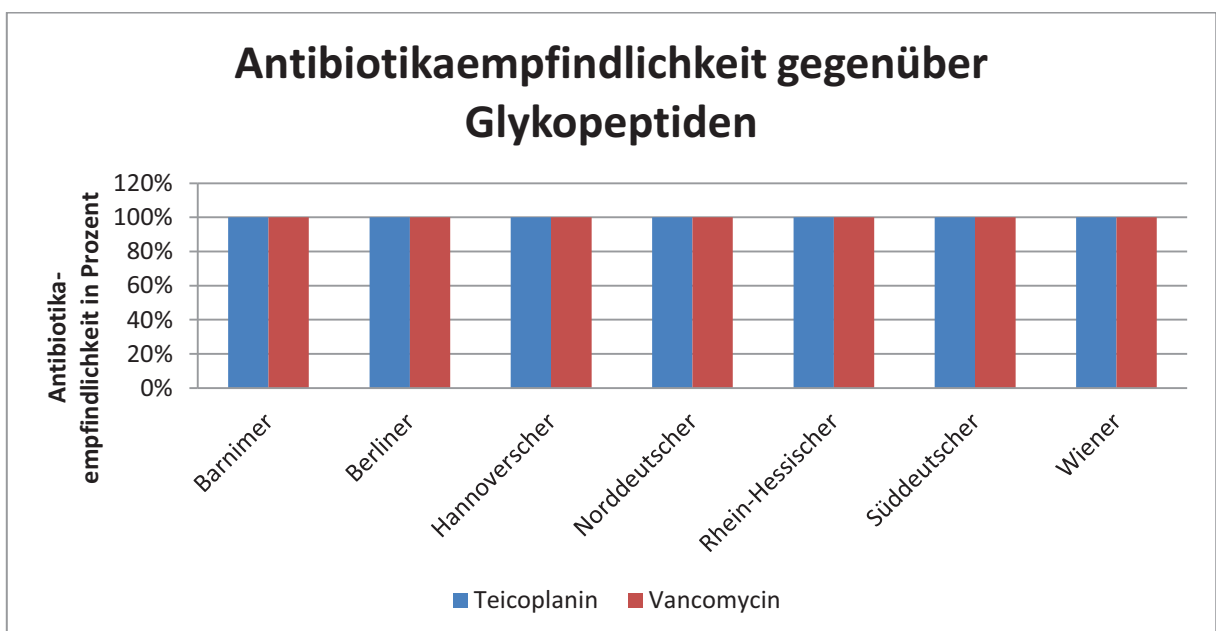


Abb. 29

Antibiotikaempfindlichkeit (in Prozent) der bekannten deutschen Epidemiekclone gegenüber den Glykopeptiden Teicoplanin und Vancomycin im gesamten Untersuchungszeitraum an der Universitätsklinik Rostock.

Gegenüber dem Oxazolidinon Linezolid waren alle Klon ebenfalls zu 100% empfindlich, während es gegen Rifampicin vereinzelt Resistenzen gab. Zu 100% waren der Berliner und der Süddeutsche Klon gegenüber Rifampicin empfindlich. Der Barnimer und der Rhein-Hessische Klon zeigten eine Empfindlichkeit von 99%, während der Norddeutsche Klon nur zu 83% empfindlich war. Ebenfalls waren beide dem Hannoverschen Klon zugehörigen Isolate gegenüber Rifampicin resistent (0% Empfindlichkeit).

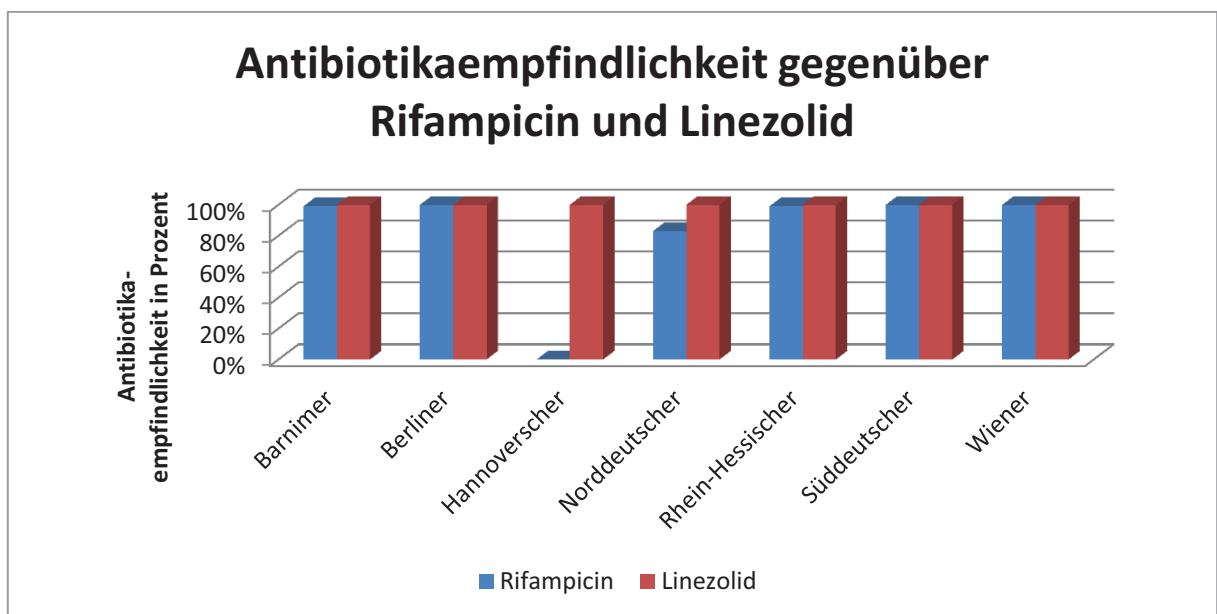


Abb. 30

Antibiotikaempfindlichkeit (in Prozent) der bekannten deutschen Epidemiekclone gegenüber Rifampicin und Linezolid im gesamten Untersuchungszeitraum an der Universitätsklinik Rostock.

4.15 Von extern zuverlegte Patienten mit MRSA

Im Verlauf der Jahre änderte sich der Anteil der von außerhalb des Klinikum zuverlegten Patienten signifikant. So lag der Anteil der zuverlegten MRSA-Patienten 2004 noch bei 14%, 2006 bei 10% und schließlich 2008 bei 12% ($p < 0,05$).

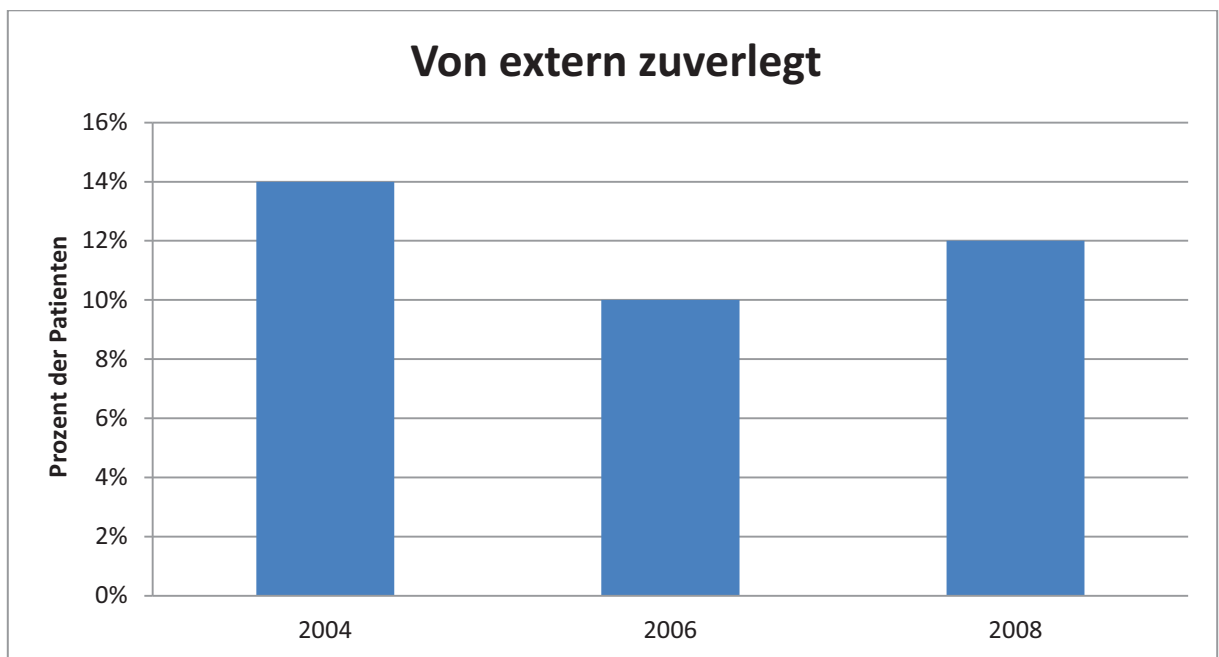


Abb. 31

Prozentualer Anteil der von anderen Krankenhäusern bzw. Einrichtungen (Rehakliniken, Altenheimen) zuverlegten MRSA-Patienten an die Universität Rostock zwischen den Jahren 2004, 2006 und 2008.

4.16 Kontaktpatienten

Erfasst wurde der Anteil der MRSA-Patienten, die Kontakt mit einem anderen Patienten hatten. Im Jahr 2004 wurden noch bei 25% der neu diagnostizierten MRSA-Patienten Kontaktpatienten identifiziert, 2006 sank die Quote auf 23% und 2008 waren es schließlich nur noch 3%. Dies war im Verlauf höchst signifikant ($p < 0,0001$).

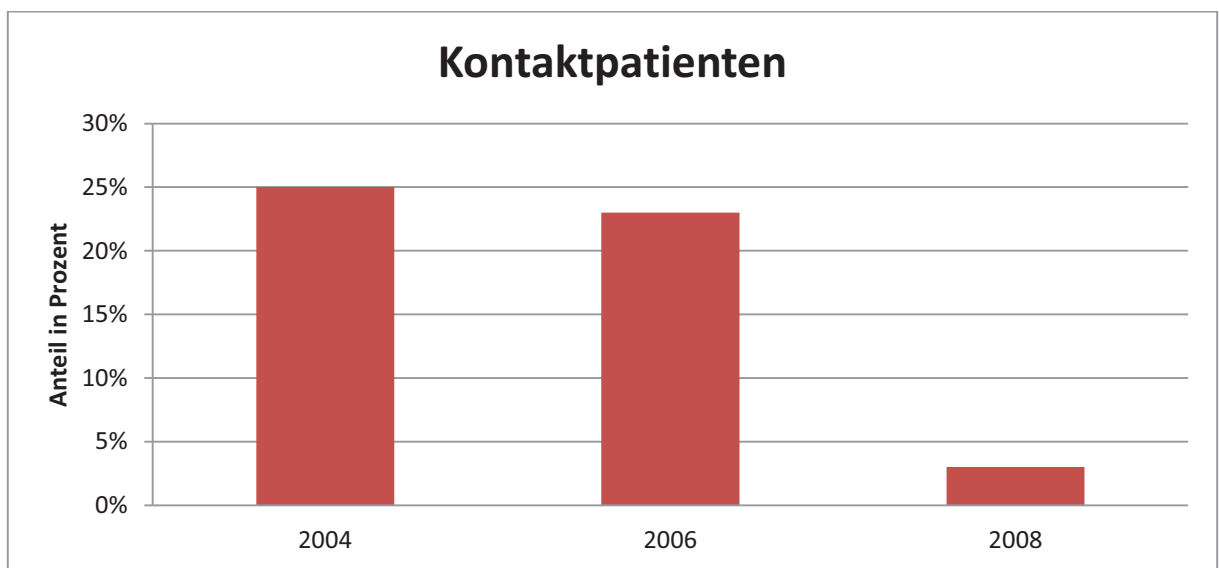


Abb. 32

Anteil der Kontaktpatienten in Prozent, die durch Kontakt mit anderen MRSA-Patienten mit MRSA des identischen bekannten deutschen Epidemieklangs zwischen den Jahren 2004, 2006 und 2008 an der Universitätsklinik Rostock kolonisiert bzw. infiziert wurden.

4.17 Zeit bis zur Erregerdetektion nach stationärer Aufnahme

Es wurde die Zeit bis zur Probenentnahme nach stationärer Aufnahme erfasst. Im Jahre 2004 wurde im Durchschnitt nach 14 Tagen (+/-17), 2006 nach 10 Tagen (+/-12) und 2008 nach 9 Tagen (+/-12) die Probe entnommen. Die Verkürzung von 2004 auf 2008 war hoch signifikant ($p=0,002$). Parallel dazu verkürzte sich die Zeit bis der MRSA-Erreger diagnostiziert wurde. Im Jahr 2004 lag die Zeit noch bei 18 Tagen (+/-17), 2006 bei 14 Tagen (+/-13) und 2008 dann bei 11 Tagen (+/-12). Diese Veränderung war höchst signifikant ($p=0,0002$).

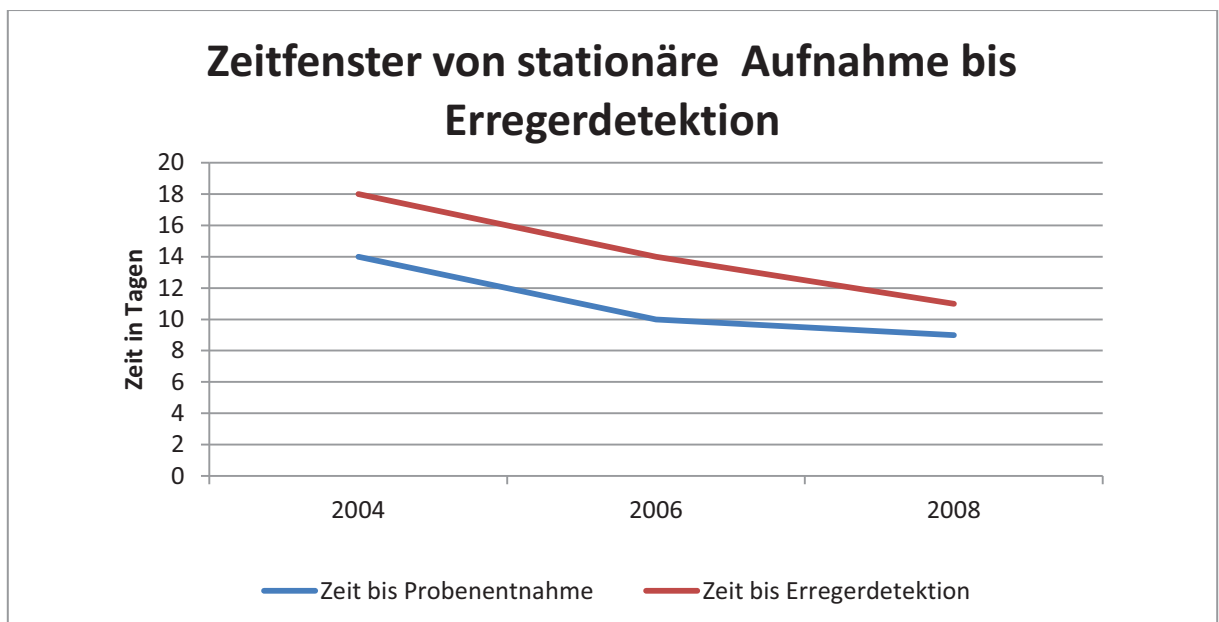


Abb. 33

Zeitdauer in Tagen von stationärer Aufnahme des Patienten an der Universität Rostock bis zur Probenentnahme in den Jahren 2004, 2006 und 2008 (blaue Kurve) und Zeitdauer in Tagen zwischen stationärer Aufnahme des Patienten und Erregerdetektion (rote Kurve).

4.18 Nosokomiale MRSA-Fälle und Infektionen

Die Rate an nosokomialen MRSA-Fällen sank von 64% im Jahr 2004 auf 45% im Jahr 2008 kontinuierlich. Dies entspricht einer signifikanten Abnahme ($p=0,002$). Dagegen nahm die Rate an Infektionen stetig von 55% auf 73% zu ($p=0,02$).

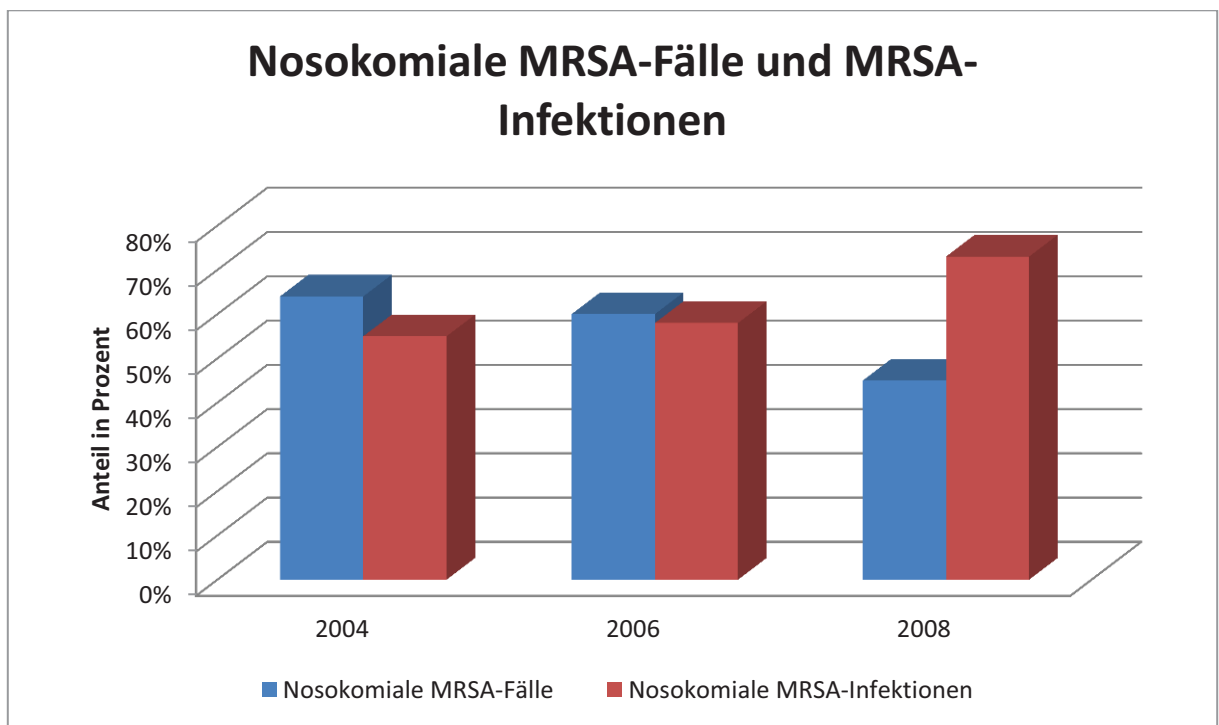


Abb. 34

Anteil der Patienten in Prozent mit nosokomial erworbenem MRSA (blaue Balken) und Anteil der Patienten in Prozent mit nosokomial erworbener MRSA-Infektion (rote Balken) in den Jahren 2004, 2006 und 2008 an der Universität Rostock.

4.19 Krankenhausverweildauer der MRSA-Patienten

Die durchschnittliche Krankenhausverweildauer aller Patienten lag an der Universität Rostock zwischen den Jahren 2004 und 2008 unverändert bei 7 Tagen. Die Krankenhausverweildauer der MRSA-Patienten veränderte sich dagegen. Sie betrug im Jahr 2004 19 Tage (+/- 16) und verkürzte sich signifikant auf 13 (+/- 11) Tage ($p=0,004$) im Jahr 2008.

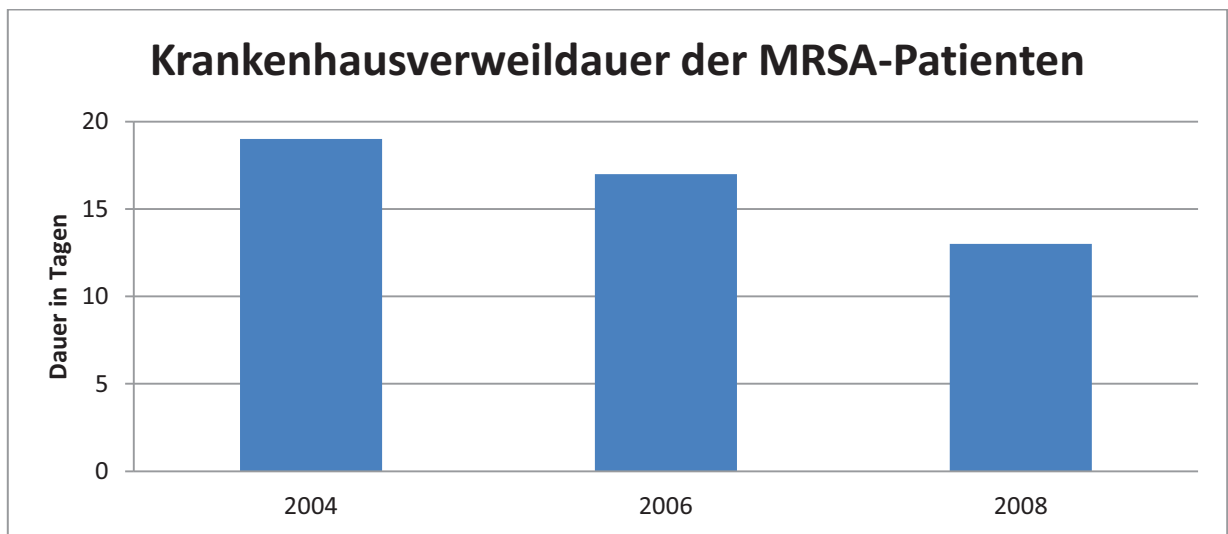


Abb. 35

Krankenhausverweildauer aller MRSA-Patienten in Tagen in den Jahren 2004, 2006 und 2008 an der Universitätsklinik Rostock.

5 Diskussion

In dieser retrospektiven Studie wurde das Auftreten von definierten MRSA-Klonen in den Einrichtungen und Stationen der Universität Rostock in einem 5 Jahres Zeitraum von 2004-2008 erfasst. Zur Diskriminierung der MRSA-Klone wurde das PFGE-Typisierungsverfahren angewandt.

Es ist gelungen mit diesem Verfahren fast jeden Stamm zu typisieren. Nur ein Stamm musste ans Robert-Koch-Institut eingeschickt werden, wo er als Wiener Klon identifiziert werden konnte.

Es konnten insgesamt 10 Ausbrüche entdeckt werden. Im Jahre 2004 ereigneten sich auf 3 unterschiedlichen chirurgischen Station 4 Ausbrüche mit dem Rhein-Hessischen Klon. Im Jahre 2006 gab es 3 Ausbrüche mit dem Rhein-Hessischen Klon, wobei eine internistische Station mit 2 Ausbrüchen und eine Intensivstation mit einem Ausbruch betroffen waren. Im Jahre 2008 waren wieder 3 Ausbrüche aufgetreten. Dabei war erstmalig ein Ausbruch mit dem Barnimer-Klon auf einer Station für Strahlentherapie zu beobachten. Die anderen beiden Ausbrüche fanden auf einer internistischen Station statt. Insgesamt ist die Anzahl der Ausbrüche konstant geblieben.

Parallel zur Zunahme der Häufigkeit der Isolierung des Barnimer Klons kam es - wie gezeigt - auch zu einem Ausbruch mit diesem Klon 2008. Wir konnten zeigen, dass mithilfe der PFGE-Technik Ausbrüche verifiziert werden können und dass Veränderungen der MRSA-Klon-Zusammensetzung langsam vonstatten gehen. Ein zweijähriger Rhythmus der PFGE-Durchführung zur Kontrolle der Ausbrüche und Veränderung der klonalen Zusammensetzung scheint auszureichen.

Neben der Erfassung von Ausbrüchen ist die Erfassung der Häufigkeit der MRSA-Fälle auf den Stationen aus hygienischer Sicht von besonderer Bedeutung. Die PFGE hilft dabei, die Veränderung der klonalen Zusammensetzung der Isolate von einzelnen Stationen zu erfassen. So zeigte sich zwischen 2004 und 2008 eine statistisch relevante Zunahme des Barnimer Klons in der internistischen Klinik von 2% auf 11% ($p < 0,001$). Der Rhein-Hessische Klon war in diesem Zeitraum auf den chirurgischen Stationen von 20,4% auf 7,4% quantitativ rückläufig ($p = 0,0015$), auf der neurologischen Station aber von 0% auf 4,5% auf dem

Vormarsch ($p=0,023$). Der Süddeutsche Klon hat auf den chirurgischen Stationen von 3% auf 0% quantitativ abgenommen ($p=0,044$). Die Intensivstationen verzeichneten ebenfalls eine signifikante Abnahme desselben Klon von 6,3% auf 1,1% ($p=0,019$).

In der aktuellen Untersuchung zeigte sich, dass die Stammzusammensetzung der MRSA-Fälle zwar Ähnlichkeiten aber prozentuale Unterschiede aufweist zwischen der Universität Rostock und den Isolaten, die vom Nationalen Referenzzentrum für Staphylokokken (NRZ) erfasst wurden. Der Barnimer und Rhein-Hessen-Klon machten sowohl in unserer Studie als auch am NRZ im Jahre 2008 den größten Anteil aus. Im Jahre 2008 war der Barnimer Klon an der Rostocker Universitätsklinik am zweithäufigsten vertreten, während er am NRZ am häufigsten vertreten war. Umgekehrt verhält es sich beim Rhein-Hessischen Klon, wobei der Anteil in Rostock höher war als am NRZ.

Ebenfalls gab es einen Unterschied beim Berliner Klon im Jahre 2008. Am NRZ war der Berliner Klon mit 13,6% deutlich häufiger vertreten als an der Universität Rostock mit 0%. Ähnlichkeiten gab es beim Süd- und Norddeutschen Klon. Am NRZ fielen 20,9% auf andere Klone. Dazu zählten der Klon ST8 aus dem CC8 Komplex mit 13,6% und der in Großbritannien epidemisch vorkommende CC30-ST36 mit 3,1%, sowie der in Türkei und Russland epidemisch vorkommende CC8-ST239 mit 2,6% (Witte 2009).

Die Prävalenzen von MRSA auf Intensivstationen sowie auf Stationen der Inneren Medizin und Chirurgie waren in den Untersuchungen vom NRZ und an der Universität Rostock ähnlich. Die Prävalenzen auf Intensivstationen lagen in beiden Untersuchungen im Jahre 2008 bei ca. 21%, auf chirurgischen Stationen dagegen bei 14%. In der Klinik für Innere Medizin in Rostock fand sich mit 32% gegenüber dem NRZ mit 20% ein größerer Anteil am MRSA-Gesamtaufkommen. Im Verlauf wurde in Rostock eine relative Zunahme des Anteils von MRSA in der Klinik für Innere Medizin gegenüber der relativen Abnahme auf den chirurgischen Stationen beobachtet.

Die Prävalenz in der Neurologie lag bei beiden Untersuchungen bei ca. 10% und in der Urologie bei 5%. Unterschiedlich war wiederum die Prävalenz in der Orthopädie in Rostock mit 1% gegenüber der vom NRZ gefundenen mit 6,7%.

Der Vergleich des Nachweises von MRSA in unterschiedlichen Materialien ergibt folgende Ergebnisse zwischen allen Daten aus der Universität Rostock und vom NRZ 2008. Bei beiden Untersuchungen gibt es Ähnlichkeiten bzgl. des Anteils von MRSA in blutstromassoziierten

Material mit ca. 10% und in Harnwegsmaterialien mit ca. 11%. Unterschiede konnten festgestellt werden bei Haut-/Schleimhautabstrichen in Rostock mit 47,6% und am NRZ mit 62,4%. Dabei dominierten im NRZ mit 52% die Wundabstriche, die in Rostock zwar ebenfalls am häufigsten vorkommen, aber nur einen Anteil von 15,3% ausmachten. In Rostock wurde zudem MRSA in Nasenabstrichen mit ebenfalls 15,3% und in Rachenabstrichen mit 10% beobachtet. Insgesamt gab es einen geringen Unterschied bei der MRSA-Inzidenz im respiratorischen Material in Rostock (19,6%) und am NRZ (15,7%). Damit lag in Rostock der Nachweis von MRSA in Hautabstrichen unterhalb des Bundesdurchschnittes und in respiratorischem Material darüber, was auch auf unterschiedliche Strategien bei Gewinnung von Abstrichen hindeuten könnte. MRSA-Nachweise im Liquor sind eine Seltenheit, wie die Ergebnisse beider Untersuchungen belegen (Rostock 0,3% und NRZ 0,1%).

Der Vergleich der Zuordnung der Epidemiestämme zu den isolierten Materialien zeigt eine höhere Prävalenz des Barnimer-Klons (CC22) am NRZ 2008 gegenüber Rostock. In nahezu allen Materialien wurde im NRZ der Barnimer Klon doppelt so häufig vorgefunden wie in Rostock. Der klonale Komplex 5 beinhaltet den Rhein-Hessen-Klon und den Süddeutschen Klon. Es wird CC5 gegenüber der Summe der beiden Epidemieklone verglichen. Hier wiederum zeigte sich das häufigere Vorkommen des Rhein-Hessen-Klons in Rostock, wobei eine doppelt so hohe prozentuale Häufigkeit von Rhein-Hessen gegenüber den NRZ-Ergebnissen existierte. Die anderen Klone verteilen sich in beiden Untersuchungen ähnlich. In unserer Studie war der Rhein-Hessische Klon signifikant häufiger vertreten in Haut/Schleimhaut/Sekret ($p=0,03$) und im respiratorischen Material ($p=0,02$). In der Weichteilgruppe (Abdominalabstrich, operativer Abstrich, Perikard, Pleura) war der Norddeutscher Klon mit 9% und der Süddeutsche Klon (18,8%) signifikant stärker vertreten ($p<0,01$). Ansonsten fanden sich keine weiteren signifikanten Affinitäten zu bestimmten Materialien.

Desweiteren ist die gegenüber der Situation in Rostock höhere Prävalenz von CC30 am NRZ auffällig. Am NRZ wurden im Jahr 2008 2 mit einem Toxic-Shock-Syndrom assoziierte CC30-Isolate und einmalig der US-amerikanische Epidemie-Klon „USA 300“ (*spa*-Typ *t3361*, *arcA*+, *lukS-lukF*+) nachgewiesen. In Rostock fanden sich keine entsprechenden Isolate.

Die Antibiotikaresistenzmuster der Rostocker und NRZ- Isolate gleichen sich weitgehend. So wurden bisher keine Resistenzen am NRZ gegenüber Glykopeptiden beobachtet. In Rostock waren ebenfalls alle Klone gegenüber Glykopeptiden empfindlich, so dass diese Antibiotika ihre prominente Stellung in der Therapie von MRSA beibehalten werden.

Neben den Glykopeptiden stellt Linezolid eine wichtige Alternative dar. In Rostock waren alle Klone gegenüber Linezolid empfindlich, während am NRZ 2 resistente Isolate der klonalen Linie ST239 zwischen 2006 und 2008 beobachtet wurden. Gegenüber Fosfomycin, Rifampicin und Fusidinsäure bestand in Rostock eine für eine Erstlinientherapie relevante durchschnittliche Empfindlichkeitsrate zwischen 96% und 99%. Die im NRZ gesammelten Stämme waren unwesentlich empfindlicher gegenüber diesen Antibiotika. Die beiden dem Hannoverschen Klon zugehörigen Stämme aus Rostock waren gegenüber Fosfomycin und Rifampicin unempfindlich, sodass eine Empfindlichkeitsrate von 0% zu verzeichnen war. Dies ist allerdings aufgrund der geringen Fallzahl statistisch irrelevant. Der Süddeutsche Klon erreichte für Fosfomycin eine Empfindlichkeitsrate von 71%.

Zu betonen ist die mit 99% hohe Empfindlichkeitsrate der Rostocker MRSA Stämme gegenüber Cotrimoxazol. Am NRZ waren dagegen nur 89,2% der Isolate empfindlich. Tatsächlich war nur ein Rostocker Stamm, nämlich der Wiener Klon, gegenüber Cotrimoxazol resistent.

Gegenüber Tetracyclin wiesen die Rostocker Isolate ebenfalls eine hohe Empfindlichkeitsrate von 97% auf, am NRZ lag diese bei 92,7%. Einen Unterschied in der Empfindlichkeit gab es bezüglich Gentamicin. Die Rostocker Stämme zeigten für Gentamicin eine Empfindlichkeitsrate von 77%, während am NRZ diese bei 89,5% lag. Dabei lag beim Süddeutschen Klon die Empfindlichkeitsrate nur bei 7%. In Rostock war Tobramycin gegenüber Gentamicin mit einer Empfindlichkeitsrate von 42% unterlegen. Dies lag an der niedrigen Empfindlichkeitsrate des Rhein-Hessischen Klons mit 23% gegenüber dem Barnimer mit 79%.

Zwischen den Jahren 2004 und 2008 wurde in Rostock eine Änderung der Gentamicin-Empfindlichkeit verzeichnet, während die Empfindlichkeit gegenüber den anderen Antibiotika weitestgehend konstant blieb. Die Gentamicinempfindlichkeit der nachgewiesenen MRSA-Isolate nahm im Untersuchungszeitraum von 60% auf 82% zu, parallel war eine Abnahme der Verwendung von Aminoglykosiden von 2004 bis 2006 um 51 % zu verzeichnen. Somit ließ sich für Gentamicin ein reziproker Zusammenhang zwischen

Applikationshäufigkeit und Empfindlichkeit nachweisen. Trotz des ab 2008 wieder beobachteten Anstiegs des Umsatzes an Gentamicin blieb die Empfindlichkeit der Isolate interessanterweise unverändert.

Nicht zu empfehlen für die MRSA-Therapie sind Makrolide, Clindamycin und Gyrasehemmer. Für die Gyrasehemmer zeigen die Rostocker Stämme eine Empfindlichkeitsrate von 2-3%, am NRZ noch von 9-10%. Die Empfindlichkeitsrate für Erythromycin und Clindamycin lagen gleich in Rostock bei 14%, am NRZ zwischen 19-27%. Dabei ragten insbesondere der Rhein-Hessische und der Süddeutsche Klon mit Empfindlichkeitsraten von 1-2% respektive 7% heraus.

Der Barnimer Klon und der Süddeutsche Klon wurden überwiegend in großen Zahlen Kolonie-bildender Einheiten (colony-forming units, cfu) isoliert (> 100.000 cfu / ml in quantitativen; "reichlich" und "massenhaft" in semi-quantitativen Kulturen), während hohe und niedrige Koloniezahlen (< 100.000 cfu in quantitativen; "nach Anreicherung in Bouillon", "vereinzelt" und "mäßig viel" in semi-quantitativen Kulturen) beim Rhein-Hessen-Klon ähnlich verteilt waren. Für die anderen Klone reichte die Menge an Isolaten nicht für eine sinnvolle Auswertung.

Kein Klon zeigte eine Präferenz für ein Wachstum in Mischkulturen. Der Anteil der Mischkulturen bezogen auf alle Klone lag bei 56%. Innerhalb der Mischkulturen traten am häufigsten gramnegative Erreger (44%) auf, gefolgt von grampositiven Keimen (29%), Standortflora (18%) und Pilzen (7%). Dabei wurde der Rhein-Hessen Klon im Vergleich zu den anderen signifikant ($p < 0,05$) häufiger im Zusammenhang mit Standortflora nachgewiesen, was die zuvor beschriebenen geringeren Keimzahlen beim Nachweis erklären könnte. Die anderen Klone wurden in untereinander vergleichbaren Häufigkeiten zusammen mit grampositiven und gramnegativen Krankheitserregern sowie Pilzen und Standortflora isoliert.

Die mittlere Dauer zwischen dokumentiertem Probenentnahmezeitpunkt und Probeneingang im Labor betrug 6,5 Stunden. Zwischen Probeneingang und Benachrichtigung des Einsenders über den MRSA-Nachweis lagen 2,6 (± 1) Tage ohne nachweisbare signifikante Veränderungen über die Jahre. Der durchschnittliche Abnahmezeitpunkt der Proben verkürzte sich im Verlauf der Jahre von 14 Tagen auf 9 Tage nach Aufnahme eines Patienten in die Klinik ($p < 0,01$), was durch die bessere, wenngleich noch immer verbesserungswürdige Umsetzung der Risikoscreening-Vorgaben der Krankenhaushygiene bedingt war. Die

durchschnittliche Patientenliegezeit bis zum MRSA-Nachweis wurde somit von 18 Tagen auf 11 Tage reduziert ($p < 0,001$). Der vom Krankenhaushygieneteam registrierte Kontakt nachgewiesener MRSA-Träger mit anderen Patienten konnte über die Jahre hoch signifikant von 25 % auf 3 % gesenkt werden ($p < 0,01$).

Im Laufe der Jahre war eine Reduktion der nosokomialen MRSA Nachweise von 64 % auf 45% aller MRSA-Isolate eines Jahres zu verzeichnen. Bei den neu diagnostizierten nosokomialen MRSA-Patienten stieg jedoch der Anteil der Infektionen von 55 % auf 61 % (45 % Besiedlungen und 55 % Infektionen 2004; 39 % Besiedlungen und 61 % Infektionen 2008). Dies ist auch zu erwarten. Durch ein verbessertes Aufnahmescreening werden MRSA-Träger eher erkannt und einer Sanierung zugeführt bzw. bei Auftreten von Krankheitssymptomen umgehend mit einer adäquaten Antibiotikatherapie behandelt. Die dabei übersehenen MRSA-Patienten fallen erst durch Krankheitssymptome auf und erhöhen so zwangsläufig den Anteil nosokomial infizierter Patienten.

Die Zahl der stationären MRSA-Tage nach erfolgtem Nachweis verkürzte sich von durchschnittlich 19 auf 13 Tage signifikant ($p < 0,01$). Entsprechend nahm die Gesamtaufenthaltsdauer der MRSA-Patienten von 33 auf 21 Tage signifikant ($p < 0,05$) ab. Dennoch lagen MRSA-Patienten auch im Jahr 2008 im Durchschnitt circa 14 Tage länger im Universitätsklinikum Rostock als das Gesamtpatientenkollektiv, dessen durchschnittliche Krankenhausverweildauer über den Untersuchungszeitraum unverändert 7 Tage betrug. Dies unterstreicht die Bedeutung des verbesserten MRSA-Screening und die Durchführung hygienischer Maßnahmen sowohl für das Befinden der Patienten als auch für das Budget des Klinikums.

Für die laufende Diagnostik stellt die PFGE aufgrund des hohen zeitlichen Bedarfes von ca. 5 Tagen nicht die optimale Lösung dar. Kürzer dauernde Verfahren mit einer ebenfalls hohen Diskriminationsfähigkeit sind daher besser geeignet. Dazu zählt die *spa*-Typisierung, die ein schnelles und effizientes Arbeiten zur Erfassung von Ausbrüchen ermöglicht. Dieses Verfahren wird seit April 2009 an der Universitätsklinik Rostock zur MRSA-Typisierung eingesetzt. Die Akkuratheit und Reproduzierbarkeit der *spa*-Typisierung wird in der Fachliteratur als exzellent beschrieben (Koreen, Ramaswamy et al. 2004; Hallin, Deplano et al. 2007; Strommenger, Bräulke et al. 2008). Anders als die Ergebnisse der PFGE sind die Ergebnisse der *spa*-Typisierung ohne besonderen Bearbeitungsaufwand auch weltweit vergleichbar (Hallin, Friedrich et al. 2009). Deswegen wird die *spa*-Typisierung benutzt, um

ein nationales und internationales Netzwerk aufzubauen, welches bei der Definition von klonalen Linien durch MLST (Multi-Locus-Sequenz-Typisierung) bzw. durch die *spa*-BURP Analyse ergänzt wird. Die Rostocker *spa*-Typisierungsdaten werden nun anders als die PFGE-Daten fortlaufend erfasst und dem nationalen Netzwerk zur Verfügung gestellt.

Die *spa*-Typisierung, PFGE und MLST sollten weniger als konkurrierende, sondern als sich ergänzende Untersuchungsverfahren betrachtet werden. Die maximale Diskriminierung der Klone wird durch simultane Anwendung aller 3 Untersuchungsverfahren erreicht (Petersson, Olsson-Liljequist et al. 2010; Shore, Rossney et al. 2010). Insbesondere wird dies notwendig, da der Barnimer und der Rhein-Hessen Klon die häufigsten Isolate darstellen und die Diskriminierung einzelner Isolate innerhalb dieser Klone zur Feststellung eines Ausbruchs notwendig sein kann. Die alleinige Durchführung der *spa*-Typisierung stößt dabei durch die Untersuchung nur eines Genomabschnitts an ihre Grenzen und muss durch weitere Verfahren wie MLST als Goldstandard für die Bestimmung klonaler Linien ergänzt werden. Für die fortlaufende Überwachung und schnelle Antwort auf klinisch relevante hygienische Fragestellungen reicht die *spa*-Typisierung dagegen aus.

In der Literatur finden sich eine Vielzahl von Typisierungsverfahren. Diese werden untereinander verglichen und deren Vor- und Nachteile aufgezeigt. Als Diskussionsgrundlage werden dabei die Diskriminationsfähigkeit, die Reproduzierbarkeit und die Vergleichbarkeit der Ergebnisse angeführt.

Die PFGE gilt immer noch als Goldstandard zur MRSA-Typisierung. Durch Verwendung spezifischer Restriktionsenzyme wie z.B. *Sma*I werden spezifische Polymorphismen der gesamten genomischen DNA erkannt. Die PFGE ist geeignet, um Ausbrüche von MRSA zu erkennen (Macfarlane, Walker et al. 1999; de Gialluly, Loulergue et al. 2003). Insbesondere war die PFGE zunächst geeignet kleine epidemiologische Untersuchungen zu ermöglichen (Chung, de Lencastre et al. 2000; Cookson, Robinson et al. 2007). Durch zunehmende Standardisierung der Protokolle und durch die Entwicklung geeigneter Software zur Analyse von PFGE-Mustern wurde die PFGE auch in Multicenter Studien, nationalen, internationalen und Langzeit-Studien sinnvoll eingesetzt (Chung, de Lencastre et al. 2000; Oliveira, Tomasz et al. 2001; Duck, Steward et al. 2003; McDougal, Steward et al. 2003; Murchan, Kaufmann et al. 2003; Cookson, Robinson et al. 2007; Hallin, Deplano et al. 2007). Die PFGE stellt immer noch die am häufigsten eingesetzte Methode zur Typisierung von MRSA dar. Es wurden jedoch sowohl die lange Untersuchungsdauer von mehreren Tagen als auch die initial

schwierige Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zwischen den Laboren kritisiert (von Heijne and Uhlen 1987; Brigido Mde, Barardi et al. 1991; van Belkum, van Leeuwen et al. 1998). Die lange Untersuchungsdauer wird bei retrospektiven Untersuchungen durch die Möglichkeit, mehrere Isolate gleichzeitig zu untersuchen, relativiert. Die Handarbeit, um 2 oder 17 Stämme mit der PFGE zu untersuchen, liegt jeweils bei 9,5 h und unterscheidet sich nicht wesentlich (Stranden, Frei et al. 2003).

Sequenzbasierte Methoden finden mehr an Zuspruch und Beliebtheit. Dies liegt an der vereinfachten Verfahrensweise, schnelleren Verfügbarkeit der Ergebnisse und besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse zwischen den Laboren und der Verfügbarkeit der Sequenz-Daten im Internet. Die qualitätsbezogenen Daten bezüglich der Typisierbarkeit, Diskriminationsfähigkeit, Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit werden dabei als gut beschrieben. Die Diskriminationsfähigkeit der bisher geprüften sequenzbasierten Verfahren ist allerdings der PFGE unterlegen. Die sequenzbasierten Methoden bedürfen allerdings keiner Standardisierung von Protokollen und die Verfügbarkeit von Referenzstämmen ist nicht notwendig. Zu den sequenzbasierten Methoden zählen die Multisequenztypisierung MLST, die *spa*-Typisierung und die SNP-Typisierung.

Die *spa*-Typisierung beruht auf der Sequenzierung der polymorphen X-Region des Protein A-Gens, welches das Zellwand-adhäsive Protein A kodiert (Frenay, Theelen et al. 1994). Die X-Region besteht aus einer unterschiedlichen Anzahl von 21 bis 27 Basenpaar großen „tandem repeats“ oder Punktmutationen (Guss, Uhlen et al. 1984; Uhlen, Guss et al. 1984; Frenay, Bunschoten et al. 1996; Shopsis, Gomez et al. 1999). Mit der *spa*-Typisierung lassen sich sowohl regionale als auch überregionale Untersuchungen durchführen (Shopsis, Gomez et al. 1999; Tang, Waddington et al. 2000; Koreen, Ramaswamy et al. 2004). Die *spa*-Typen können auf der homepage: www.spa.ridom.de abgerufen werden. Dort sind aus über 70 Ländern über 7500 *spa*-Typen erfasst. Als Vorteil gegenüber der PFGE gilt insbesondere die Schnelligkeit der Verfügbarkeit der Ergebnisse, so dass Ausbrüche in Krankenhäusern rasch identifiziert werden können (Narukawa, Yasuoka et al. 2009). Die Diskriminationsfähigkeit wird als annähernd gleich der PFGE beschrieben (Strommenger, Kettlitz et al. 2006; Hallin, Deplano et al. 2007; Narukawa, Yasuoka et al. 2009). Einige Studien zeigen eine Unterlegenheit der *spa*-Typisierung gegenüber der PFGE hinsichtlich der Diskriminationsfähigkeit, betonen allerdings die Schnelligkeit der Verfügbarkeit von Ergebnissen, die zur Erkennung von Ausbrüchen notwendig ist (Malachowa, Sabat et al. 2005; Narukawa, Yasuoka et al. 2009).

Mit der MLST Methode werden 7 so genannte „housekeeping“ Gene (*arcC*, *aroE*, *alpF*, *gmk*, *pta*, *tpi*, *yqiL*) des Primärstoffwechsels von *S. aureus* sequenziert. Die Mutation dieser Gene geht nur langsam vonstatten (Spratt 1999). Die unterschiedlichen Allele werden zu einem Profil zusammengefasst, das einen Sequenztyp ergibt. Stämme mit gleichem Sequenztyp (ST) werden als Isolate eines gleichen Klon betrachtet. Der Vergleich identischer Sequenztypen mit den zugehörigen PFGE-Mustern ergibt einen hohen Grad an Übereinstimmung. Sofern Klone gleichen Sequenztyps aber ein PFGE-Muster mit einem Unterschied aus mehr als 6 Banden haben, müssen sie als genetisch verschieden betrachtet werden. Der Vorteil von MLST liegt in der Möglichkeit der Durchführung phylogenetischer Untersuchungen. Sequenztypen mit hoher Übereinstimmung der Allele werden als genetisch verwandt, ST-Typen mit niedriger Übereinstimmung als genetisch sehr distinkt betrachtet. Auf diese Weise lassen sich Dendrogramme erstellen. Die MLST ist aufgrund der niedrigen Mutationsrate in den sequenzierten Genen weniger diskriminationsfähig als die PFGE und wird daher als Goldstandard in Populationsanalysen betrachtet (Gomes, Vinga et al. 2005; Aires-de-Sousa, Boye et al. 2006). Mithilfe der MLST wurde die Theorie aufgestellt, dass die MRSA durch einen horizontalen Gentransfer von *mecA* aus MSSA entstanden sind (Musser and Kapur 1992). Diese Theorie erscheint plausibel, da sich der ST30, der nur als MRSA auftritt, von dem ST36, der nur als MSSA auftritt, nur durch ein Allel unterscheidet (Enright, Day et al. 2000). Eine Unterscheidung von MRSA und MSSA kann die MLST jedoch nicht leisten. Aufgrund der Sequenzierung von 7 Genen ist die MLST jedoch arbeits- und kostenintensiv und eignet sich nicht für die Routinediagnostik.

Um die aufwendige Sequenzierung zu umgehen, wurde mithilfe der MLST-Datenbank die Typisierung von MRSA anhand von SN-(single-nucleotide)-Polymorphismen etabliert. Mit geeigneter Software „Minimum SNP's“ wurden innerhalb der „housekeeping“ Gene der MLST-Datenbank geeignete Basensequenzen mit einem hohen Variabilitätsindex ausfindig gemacht (Robertson, Thiruvengadaswamy et al. 2004). Schließlich wurden für die Typisierung von MRSA 7 SNPs ausgewählt und, um die Diskriminationsfähigkeit zu steigern, diese um weitere 7 binäre Marker, wie die Virulenz-assoziierten Gene *cna*, *pvl*, *bhp/sdrE* und die integrierten Plasmide *pt181*, *pt258*, *pUB110* sowie die SCC-mec Typisierung, erweitert. Mithilfe der Real-time PCR kann nach dem Prinzip Vorhanden- versus Nichtvorhandensein von den untersuchten SNPs schnell und kostengünstig ein SNP-Profil erstellt und die MRSA-Isolate voneinander unterschieden werden. Die Diskriminationsfähigkeit liegt allerdings unterhalb der der MLST (Stephens, Huygens et al. 2006).

Eine neue sequenzbasierte Methode zur Typisierung von MRSA beruht auf einem Single-Nucleotide-Polymorphismus (SNP) von 3 *set*-Genen (*set2*, *set5*, *set7*), deren Kombination einen neuen Exotoxin-Sequence-Type (ETST) ergibt. Ein Vergleich zur MLST ergab eine höhere Diskriminationsfähigkeit. Daher empfehlen die Autoren bei ST1, ST39 und ST36 zur weiteren Diskriminierung dieser MRSA-ST-Typen die SNP-Methode auf der Basis der Exotoxin (*set*)- Gene durchzuführen. Es hat sich gezeigt, dass die ST-Typen 1, 39 und 36 in weitere ETST-Typen unterteilt werden können und damit die Diskriminationsfähigkeit von der MLST erhöht werden kann (Aguiar-Alves, Medeiros et al. 2006).

Ein weiteres Typisierungsverfahren ist die Multiple-Locus-Variable-Number-of-Tandem-Repeat-(VNTR)-Analyse, auch kurz als MLVA abgekürzt. In dieser Methode werden 7 Gene (*sspA*, *spa*, *sdrC*, *sdrC*, *sdrE*, *clfA*, *clfB*) von *S. aureus* mit der PCR amplifiziert, die – isolatabhängig - eine unterschiedliche Anzahl an Tandem-Repeats aufweisen. Nach der Amplifikation erfolgt eine elektrophoretische Auftrennung der PCR-Produkte, bei der sich bei Bindung aller Primer 7 Banden zeigen. Die Diskriminationsfähigkeit dieser Methode ist zwar etwas niedriger, allerdings noch mit der PFGE vergleichbar. Die Diskriminationsfähigkeit liegt über der der *spa*- und MLST-Typisierung (Malachowa, Sabat et al. 2005), (Sabat, Krzyszton-Russjan et al. 2003). Außerdem beschreiben die Autoren die MLVA als eine schnelle, billige und in ihrer Handhabung leicht anwendbare Methode. Die Interpretation soll dabei durch die verminderte Anzahl der Banden einfacher sein. Standardisierte Protokolle sind auch hier wie bei der PFGE notwendig. Eine Vergleichbarkeit zwischen den Laboren soll einfacher sein als bei der PFGE, eine Internet-basierte Datenbank wie bei den sequenzbasierten Methoden existiert allerdings nicht. Durch Auswahl geeigneter Cut-off-Werte können phylogenetische Untersuchungen durchgeführt und ähnlich wie bei der MLST Dendrogramme erstellt werden.

Eine PCR-basierte, schnelle und kostengünstige Methode stellt desweiteren die Multiplex-PCR dar. Vom Primermix werden dabei die hypervariable Region HVR benachbart zum *mecA* Gen, ein Teil des *spa*-Gens und ein Teil des *coa*-Gens erfasst. Nach der Amplifikation wird durch Gelelektrophorese eine Auftrennung der Amplifikate durchgeführt, mittels der GelCompar Software werden Dendrogramme erstellt. Es hat sich bei Ausbruchsstämmen eine Konkordanz zur PFGE von 100% ergeben, bei endemischen Stämmen jedoch nur von 72% (Stranden, Frei et al. 2003). Bezüglich der Diskriminationsfähigkeit war die PFGE überlegen. Pro Isolat war die PCR 3 Mal kostengünstiger als die PFGE. Während für die PCR DNA-Extraktion, Amplifikation und Gelelektrophorese 8 h erforderten, benötigte die PFGE-

Analyse eine Woche bis zur Ergebniserzielung. Die Reproduzierbarkeit der Multiplex-PCR lag ebenfalls unterhalb der der PFGE.

Zur Untersuchung von MRSA-Ausbrüchen mit Bestimmung von genetischen Verwandtschaftsgraden werden auch kommerzielle Systeme angeboten, wie z.B. das Rep-PCR-basierte „DiversiLab microbial typing system“ (bioMérieux, Nürtingen). Dabei wurde die manuelle Rep-PCR modifiziert und automatisiert (Healy, Huong et al. 2005). Die multiplen repetitiven Sequenzen (zwischen 30 und 500 Basenpaare), die im gesamten Genom vorliegen, werden wie bei der VNTR-Analyse zunächst mit spezifischen Primern amplifiziert, dann mit Microfluid-Chips separiert und mit der DiversiLab Software, die die Banden der Isolate in einem Dendrogramm darstellt, analysiert. Es ergeben sich virtuelle Gel-Bilder, die einen „DNA-Fingerprint“ darstellen und die Auswertung erfolgt anhand der Vergleichbarkeit der Muster. Der Vorteil solcher Systeme besteht in ihrer schnellen Durchführbarkeit bei ca. 8 Stunden Analysedauer und ihrer hohen Benutzerfreundlichkeit durch das Vorliegen fertiger Kit-Systeme (Shutt, Pounder et al. 2005). Die Diskriminationsfähigkeit liegt unterhalb der der PFGE, wird allerdings als gut beschrieben. Die Konkordanz der Ergebnisse mit der PFGE liegt bei ca. 85% (Ross, Merz et al. 2005).

Die Auswahl des optimalen Typisierungsverfahrens sollte sich nach der Fragestellung richten. Sollten in der laufenden Diagnostik im Klinikalltag Ausbrüche aufgedeckt werden oder reicht es, die Ausbrüche retrospektiv zu betrachten? Oder sollten etwa Fragen nach langsamen Veränderungen der Stammzusammensetzung beantwortet werden? Die PFGE kann sowohl zur Ausbruchsbestimmung verwendet werden als auch für epidemiologische Untersuchungen. Der der PFGE-Analyse anhängende Makel der langen Bearbeitungsdauer wird dann relativiert, wenn Isolate zur epidemiologischen Typisierung nicht umgehend analysiert werden müssen, sondern eine Sammlung über einen längeren Zeitraum in Kombination mit einer retrospektiven Analyse erfolgt. Wenn ganze Serien, noch dazu zeitlich versetzt, bearbeitet werden, sinkt die Bearbeitungszeit für das Einzelisolat. Aufwendige und kostspielige Verfahren wie Sequenzierungen entfallen vollständig.

Aufgrund der höheren Zeit-Kosten-Nutzen-Effizienz in der Routinediagnostik empfehlen sich aktuell andere Methoden wie die *spa*-Typisierung oder alternative PCR-basierte Verfahren (Multiplex-PCR, VNTR-Analyse, SNP-Analyse). Da zum Teil diskrepante Aussagen zur Diskriminationsfähigkeit der verschiedenen Methoden vorliegen, empfiehlt es sich, dass die Labore die Diskriminationsfähigkeit der eingesetzten Methodik an definierten Ausbruchsisolaten testen. Aufgrund der regionalen Unterschiede in der

Stammzusammensetzung kann eine Methodik für eine Region sehr gute Ergebnisse liefern, während ein anderes Verfahren für eine andere Region besser geeignet sein kann. Dies veranschaulicht die Studie von Deplano et al., der eine gleiche Diskriminationsfähigkeit der PCR-basierten inter-IS256 Längenpolymorphismus-Testung und der PFGE feststellte. Diese PCR-basierte Methode war dagegen bei Stämmen aus den USA der PFGE hinsichtlich der Diskriminationsfähigkeit unterlegen (Deplano, Vaneechoutte et al. 1997).

Es ist bereits seit den 60er Jahren bekannt, dass die Zunahme der Prävalenz von resistenten Staphylokokken mit einem erhöhten Antibiotika-Verbrauch in den Kliniken einhergeht (Forfar, Keay et al. 1966). Daher ist ein verantwortungsbewusster Umgang mit Antibiotika zur Prävention von Resistenzen wünschenswert. In Dänemark gelang es bereits Ende der 1960er und in den 1970er Jahren, die MRSA-Rate bei Blutkulturisolaten von *Staphylococcus aureus* von über 30 % auf unter 1 % zu reduzieren (Huber, Koller et al. 2010). Dieses Beispiel zeigt, dass die Implementierung von Programmen zur besseren Infektionskontrolle und zum sorgsamem Umgang mit Antibiotika erfolgreich sein kann. In Deutschland wurde kürzlich die Aktion „Saubere Hände“ mit dem Ziel ins Leben gerufen, die Rate nosokomialer Infektionen zu senken (Elie-Turenne, Fernandes et al.).

Neben der Krankenhaushygiene sollte dem Umgang mit Antibiotika in der Tierhaltung Beachtung geschenkt werden, da MRSA im Tierreich verbreitet ist. In der Tierhaltung ist MRSA vor allem bei Schweinen und Pferden beschrieben worden. Es sollten daher Antibiotika auch in der Tierhaltung rational eingesetzt werden, obwohl noch nicht klar ist, ob eine Übertragung auf den Menschen durch Fleischkonsum bereits erfolgt ist (Rossney, Herra et al. 2008). Die Zusammenarbeit der Human- mit der Veterinärmedizin auf der Basis eines europäischen Netzwerkes für die Typisierung von MRSA stellt somit ein wichtiges ergänzendes Tool zur Überwachung und Prävention der MRSA-Ausbreitung dar (Friedrich, Witte et al. 2008).

Dabei werden Methoden zur MRSA-Typisierung, ob banden- oder sequenzbasiert, heute wie in Zukunft einen wichtigen Beitrag leisten.

6 Literatur

- Adcock, P. M., P. Pastor, et al. (1998). "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in two child care centers." *J Infect Dis* **178**(2): 577-580.
- Adem, P. V., C. P. Montgomery, et al. (2005). "Staphylococcus aureus sepsis and the Waterhouse-Friderichsen syndrome in children." *N Engl J Med* **353**(12): 1245-1251.
- Aguiar-Alves, F., F. Medeiros, et al. (2006). "New *Staphylococcus aureus* genotyping method based on exotoxin (set) genes." *J Clin Microbiol* **44**(8): 2728-2732.
- Aires-de-Sousa, M., K. Boye, et al. (2006). "High interlaboratory reproducibility of DNA sequence-based typing of bacteria in a multicenter study." *J Clin Microbiol* **44**(2): 619-621.
- Anonymus (2008). "Recent trends in antimicrobial resistance among *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* isolates: the French experience." *Euro Surveill* **13**(46).
- Baddour, L. M., W. R. Wilson, et al. (2005). "Infective endocarditis: diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications: a statement for healthcare professionals from the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Councils on Clinical Cardiology, Stroke, and Cardiovascular Surgery and Anesthesia, American Heart Association: endorsed by the Infectious Diseases Society of America." *Circulation* **111**(23): e394-434.
- Balaban, N. and A. Rasooly (2000). "Staphylococcal enterotoxins." *Int J Food Microbiol* **61**(1): 1-10.
- Barrett, F. F., R. F. McGehee, Jr., et al. (1968). "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at Boston City Hospital. Bacteriologic and epidemiologic observations." *N Engl J Med* **279**(9): 441-448.
- Bartels, M. D., K. Boye, et al. (2007). "Rapid increase of genetically diverse methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Copenhagen, Denmark." *Emerg Infect Dis* **13**(10): 1533-1540.
- Bassetti, M., M. Mikulska, et al. (2009). "The role of telavancin in the treatment of MRSA infections in hospital." *Expert Opin Investig Drugs* **18**(4): 521-529.
- Bastin, R., R. Worms, et al. (1967). "[Clinical incidence of heterogenous resistance of *Staphylococcus* to penicillin and cephalosporin]." *Pathol Biol* **15**(23): 1205-1211.
- Becker, K., A. W. Friedrich, et al. (2003). "Prevalence of genes encoding pyrogenic toxin superantigens and exfoliative toxins among strains of *Staphylococcus aureus* isolated from blood and nasal specimens." *J Clin Microbiol* **41**(4): 1434-1439.
- Benner, E. J. and F. H. Kayser (1968). "Growing clinical significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." *Lancet* **2**(7571): 741-744.
- Berenholtz, S. M., P. J. Pronovost, et al. (2004). "Eliminating catheter-related bloodstream infections in the intensive care unit." *Crit Care Med* **32**(10): 2014-2020.
- Bhakdi, S. and J. Tranum-Jensen (1991). "Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*." *Microbiol Rev* **55**(4): 733-751.
- Bohach, G. A., D. J. Fast, et al. (1990). "Staphylococcal and streptococcal pyrogenic toxins involved in toxic shock syndrome and related illnesses." *Crit Rev Microbiol* **17**(4): 251-272.
- Bone, R. C. (1994). "Gram-positive organisms and sepsis." *Arch Intern Med* **154**(1): 26-34.
- Bonten, M. J., S. Slaughter, et al. (1998). "The role of "colonization pressure" in the spread of vancomycin-resistant enterococci: an important infection control variable." *Arch Intern Med* **158**(10): 1127-1132.
- Boyce, J. M., S. M. Opal, et al. (1993). "Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a hospital after exposure to a health care worker with chronic sinusitis." *Clin Infect Dis* **17**(3): 496-504.

- Boyce, J. M., G. Potter-Bynoe, et al. (1997). "Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: possible infection control implications." Infect Control Hosp Epidemiol **18**(9): 622-627.
- Brigido Mde, M., C. R. Barardi, et al. (1991). "Nucleotide sequence of a variant protein A of *Staphylococcus aureus* suggests molecular heterogeneity among strains." J Basic Microbiol **31**(5): 337-345.
- Casewell, M. W. and R. L. Hill (1986). "The carrier state: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." J Antimicrob Chemother **18 Suppl A**: 1-12.
- CDC (1999). "From the Centers for Disease Control and Prevention. Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*--Minnesota and North Dakota, 1997-1999." JAMA **282**(12): 1123-1125.
- CDC (2002). "Staphylococcus aureus resistant to vancomycin--United States, 2002." MMWR Morb Mortal Wkly Rep **51**(26): 565-567.
- CDC, C. o. D. C. a. P. (2007). "2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings." <http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/isolation/Isolation2007.pdf>.
- Cepeda, J. A., T. Whitehouse, et al. (2005). "Isolation of patients in single rooms or cohorts to reduce spread of MRSA in intensive-care units: prospective two-centre study." Lancet **365**(9456): 295-304.
- Chabbert, Y. A. and J. G. Baudens (1962). "[*Staphylococcus* strains naturally resistant to methicillin and 5-methyl-3-phenyl-4-iso-oxazolyl-penicillin.]" Ann Inst Pasteur (Paris) **103**: 222-230.
- Chaix, C., I. Durand-Zaleski, et al. (1999). "Control of endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a cost-benefit analysis in an intensive care unit." JAMA **282**(18): 1745-1751.
- Chambers, H. F. (1997). "Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications." Clin Microbiol Rev **10**(4): 781-791.
- Chambers, H. F. (2001). "The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*?" Emerg Infect Dis **7**(2): 178-182.
- Chambers, H. F., O. M. Korzeniowski, et al. (1983). "Staphylococcus aureus endocarditis: clinical manifestations in addicts and nonaddicts." Medicine (Baltimore) **62**(3): 170-177.
- Cheng, A. F. and G. L. French (1988). "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia in Hong Kong." J Hosp Infect **12**(2): 91-101.
- Chung, M., H. de Lencastre, et al. (2000). "Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis: comparison of results obtained in a multilaboratory effort using identical protocols and MRSA strains." Microb Drug Resist **6**(3): 189-198.
- Cizman, M. (2008). "Experiences in prevention and control of antibiotic resistance in Slovenia." Euro Surveill **13**(46).
- Como-Sabetti, K., K. H. Harriman, et al. (2009). "Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: trends in case and isolate characteristics from six years of prospective surveillance." Public Health Rep **124**(3): 427-435.
- Cook, H. A., E. Y. Furuya, et al. (2007). "Heterosexual transmission of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." Clin Infect Dis **44**(3): 410-413.
- Cookson, B. D., D. A. Robinson, et al. (2007). "Evaluation of molecular typing methods in characterizing a European collection of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains: the HARMONY collection." J Clin Microbiol **45**(6): 1830-1837.
- Coopersmith, C. M., T. L. Rebmann, et al. (2002). "Effect of an education program on decreasing catheter-related bloodstream infections in the surgical intensive care unit." Crit Care Med **30**(1): 59-64.
- Cribier, B., G. Prevost, et al. (1992). "Staphylococcus aureus leukocidin: a new virulence factor in cutaneous infections? An epidemiological and experimental study." Dermatology **185**(3): 175-180.

- Curran, E. T., J. C. Benneyan, et al. (2002). "Controlling methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a feedback approach using annotated statistical process control charts." Infect Control Hosp Epidemiol **23**(1): 13-18.
- Curtis, J. R., D. J. Cook, et al. (2006). "Intensive care unit quality improvement: a "how-to" guide for the interdisciplinary team." Crit Care Med **34**(1): 211-218.
- Dai, T., G. P. Tegos, et al. (2010). "Photodynamic therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in a mouse skin abrasion model." Lasers Surg Med **42**(1): 38-44.
- Davis, K. A., J. J. Stewart, et al. (2004). "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infection." Clin Infect Dis **39**(6): 776-782.
- de Gialluly, C., J. Loulergue, et al. (2003). "Identification of new phages to type *Staphylococcus aureus* strains and comparison with a genotypic method." J Hosp Infect **55**(1): 61-67.
- Deisenhofer, J. (1981). "Crystallographic refinement and atomic models of a human Fc fragment and its complex with fragment B of protein A from *Staphylococcus aureus* at 2.9- and 2.8-Å resolution." Biochemistry **20**(9): 2361-2370.
- Deplano, A., M. Vaneechoutte, et al. (1997). "Typing of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains by PCR analysis of inter-IS256 spacer length polymorphisms." J Clin Microbiol **35**(10): 2580-2587.
- Donlan, R. M. and J. W. Costerton (2002). "Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms." Clin Microbiol Rev **15**(2): 167-193.
- Duck, W. M., C. D. Steward, et al. (2003). "Optimization of computer software settings improves accuracy of pulsed-field gel electrophoresis macrorestriction fragment pattern analysis." J Clin Microbiol **41**(7): 3035-3042.
- Duckro, A. N., D. W. Blom, et al. (2005). "Transfer of vancomycin-resistant enterococci via health care worker hands." Arch Intern Med **165**(3): 302-307.
- Dupeyron, C., B. Campillo, et al. (2002). "A clinical trial of mupirocin in the eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage in a digestive disease unit." J Hosp Infect **52**(4): 281-287.
- Elie-Turenne, M. C., H. Fernandes, et al. (2010). "Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* colonization among healthcare professionals in an urban teaching hospital." Infect Control Hosp Epidemiol **31**(6): 574-580.
- Enright, M. C., N. P. Day, et al. (2000). "Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*." J Clin Microbiol **38**(3): 1008-1015.
- Enright, M. C., D. A. Robinson, et al. (2002). "The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(11): 7687-7692.
- Eveillard, M., F. Eb, et al. (2001). "Evaluation of the contribution of isolation precautions in prevention and control of multi-resistant bacteria in a teaching hospital." J Hosp Infect **47**(2): 116-124.
- Fang, G., T. F. Keys, et al. (1993). "Prosthetic valve endocarditis resulting from nosocomial bacteremia. A prospective, multicenter study." Ann Intern Med **119**(7 Pt 1): 560-567.
- Feil, E. J. and M. C. Enright (2004). "Analyses of clonality and the evolution of bacterial pathogens." Curr Opin Microbiol **7**(3): 308-313.
- Fernandez-Guerrero, M. L., C. Verdejo, et al. (1995). "Hospital-acquired infectious endocarditis not associated with cardiac surgery: an emerging problem." Clin Infect Dis **20**(1): 16-23.
- Forfar, J. O., A. J. Keay, et al. (1966). "Liberal use of antibiotics and its effect in neonatal staphylococcal infection, with particular reference to erythromycin." Lancet **2**(7458): 295-300.
- Foster, T. J. and M. Hook (1998). "Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*." Trends Microbiol **6**(12): 484-488.

- Fowler, V. G., Jr., G. Sakoulas, et al. (2004). "Persistent bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection is associated with agr dysfunction and low-level in vitro resistance to thrombin-induced platelet microbicidal protein." *J Infect Dis* **190**(6): 1140-1149.
- Frenay, H. M., A. E. Bunschoten, et al. (1996). "Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the basis of protein A gene polymorphism." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **15**(1): 60-64.
- Frenay, H. M., J. P. Theelen, et al. (1994). "Discrimination of epidemic and nonepidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains on the basis of protein A gene polymorphism." *J Clin Microbiol* **32**(3): 846-847.
- French, G. L., J. A. Otter, et al. (2004). "Tackling contamination of the hospital environment by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a comparison between conventional terminal cleaning and hydrogen peroxide vapour decontamination." *J Hosp Infect* **57**(1): 31-37.
- Fridkin, S. K., J. Hageman, et al. (2003). "Epidemiological and microbiological characterization of infections caused by *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin, United States, 1997-2001." *Clin Infect Dis* **36**(4): 429-439.
- Fridkin, S. K., J. C. Hageman, et al. (2005). "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities." *N Engl J Med* **352**(14): 1436-1444.
- Friedrich, A. W., W. Witte, et al. (2008). "A European laboratory network for sequence-based typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as a communication platform between human and veterinary medicine--an update on SeqNet.org." *Euro Surveill* **13**(19).
- Fujino, T., Y. Amari, et al. (2009). "MRSA tricuspid valve infective endocarditis with multiple embolic lung abscesses treated by combination therapy of vancomycin, rifampicin, and sulfamethoxazole/trimethoprim." *J Cardiol* **53**(1): 146-149.
- Gadepalli, R., B. Dhawan, et al. (2009). "Clinical and molecular characteristics of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue isolates from three Indian hospitals." *J Hosp Infect* **73**(3): 253-263.
- Gastmeier, P., C. Geffers, et al. (2003). "[Surveillance of nosocomial infections in intensive care units. Current data and interpretations]." *Wien Klin Wochenschr* **115**(3-4): 99-103.
- Gastmeier, P., F. Schwab, et al. (2004). "To isolate or not to isolate? Analysis of data from the German Nosocomial Infection Surveillance System regarding the placement of patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in private rooms in intensive care units." *Infect Control Hosp Epidemiol* **25**(2): 109-113.
- Gastmeier, P., D. Sohr, et al. (2005). "Mortality risk factors with nosocomial *Staphylococcus aureus* infections in intensive care units: results from the German Nosocomial Infection Surveillance System (KISS)." *Infection* **33**(2): 50-55.
- Gemmell, C. G., D. I. Edwards, et al. (2006). "Guidelines for the prophylaxis and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in the UK." *J Antimicrob Chemother* **57**(4): 589-608.
- Gladstone, G. P. and W. E. Van Heyningen (1957). "Staphylococcal leucocidins." *Br J Exp Pathol* **38**(2): 123-137.
- Gomes, A. R., S. Vinga, et al. (2005). "Analysis of the genetic variability of virulence-related loci in epidemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." *Antimicrob Agents Chemother* **49**(1): 366-379.
- Guss, B., M. Uhlen, et al. (1984). "Region X, the cell-wall-attachment part of staphylococcal protein A." *Eur J Biochem* **138**(2): 413-420.
- Hallin, M., A. Deplano, et al. (2007). "Validation of pulsed-field gel electrophoresis and spa typing for long-term, nationwide epidemiological surveillance studies of *Staphylococcus aureus* infections." *J Clin Microbiol* **45**(1): 127-133.
- Hallin, M., A. W. Friedrich, et al. (2009). "spa typing for epidemiological surveillance of *Staphylococcus aureus*." *Methods Mol Biol* **551**: 189-202.

- Healy, M., J. Huong, et al. (2005). "Microbial DNA typing by automated repetitive-sequence-based PCR." J Clin Microbiol **43**(1): 199-207.
- Herold, B. C., L. C. Immergluck, et al. (1998). "Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk." JAMA **279**(8): 593-598.
- Hershberger, E., S. Donabedian, et al. (2004). "Quinupristin-dalfopristin resistance in gram-positive bacteria: mechanism of resistance and epidemiology." Clin Infect Dis **38**(1): 92-98.
- Heumann, D., C. Barras, et al. (1994). "Gram-positive cell walls stimulate synthesis of tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 by human monocytes." Infect Immun **62**(7): 2715-2721.
- Hiramatsu, K. (2001). "Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance." Lancet Infect Dis **1**(3): 147-155.
- Hitomi, S., M. Kubota, et al. (2000). "Control of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a neonatal intensive care unit by unselective use of nasal mupirocin ointment." J Hosp Infect **46**(2): 123-129.
- Hone, R., M. Cafferkey, et al. (1981). "Bacteraemia in Dublin due to gentamicin-resistant *Staphylococcus aureus*." J Hosp Infect **2**(2): 119-126.
- Huber, H., S. Koller, et al. (2010). "Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans in contact with farm animals, in livestock, and in food of animal origin, Switzerland, 2009." Euro Surveill **15**(16).
- Jevons (1961). "Celbenin-resistant *Staphylococci*." BMJ: i: 308-311.
- Jones, R. N. (2006). "Microbiological features of vancomycin in the 21st century: minimum inhibitory concentration creep, bactericidal/static activity, and applied breakpoints to predict clinical outcomes or detect resistant strains." Clin Infect Dis **42 Suppl 1**: S13-24.
- Kahl, B., M. Herrmann, et al. (1998). "Persistent infection with small colony variant strains of *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis." J Infect Dis **177**(4): 1023-1029.
- Karchmer, T. B., L. J. Durbin, et al. (2002). "Cost-effectiveness of active surveillance cultures and contact/droplet precautions for control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." J Hosp Infect **51**(2): 126-132.
- Katayama, Y., T. Ito, et al. (2000). "A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*." Antimicrob Agents Chemother **44**(6): 1549-1555.
- Kerr, S., G. E. Kerr, et al. (1990). "A survey of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* affecting patients in England and Wales." J Hosp Infect **16**(1): 35-48.
- Khare, M. and D. Keady (2003). "Antimicrobial therapy of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infection." Expert Opin Pharmacother **4**(2): 165-177.
- Kimura, A., H. Igarashi, et al. (1992). "[Epidemiological study of *Staphylococcus aureus* isolated from the Japanese National University and Medical College Hospitals with coagulase typing, and production of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin-1]." Kansenshogaku Zasshi **66**(11): 1543-1549.
- Koreen, L., S. V. Ramaswamy, et al. (2004). "spa typing method for discriminating among *Staphylococcus aureus* isolates: implications for use of a single marker to detect genetic micro- and macrovariation." J Clin Microbiol **42**(2): 792-799.
- Kuehnert, M. J., D. Kruszon-Moran, et al. (2006). "Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002." J Infect Dis **193**(2): 172-179.
- Larson, E. L., E. Early, et al. (2000). "An organizational climate intervention associated with increased handwashing and decreased nosocomial infections." Behav Med **26**(1): 14-22.
- Lautenbach, E., J. B. Patel, et al. (2001). "Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes." Clin Infect Dis **32**(8): 1162-1171.
- Leuthner, K. D., C. M. Cheung, et al. (2006). "Comparative activity of the new lipoglycopeptide telavancin in the presence and absence of serum against 50 glycopeptide non-susceptible

- staphylococci and three vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*." J Antimicrob Chemother **58**(2): 338-343.
- Libman, H. and R. D. Arbeit (1984). "Complications associated with *Staphylococcus aureus* bacteremia." Arch Intern Med **144**(3): 541-545.
- Macfarlane, L., J. Walker, et al. (1999). "Improved recognition of MRSA case clusters by the application of molecular subtyping using pulsed-field gel electrophoresis." J Hosp Infect **41**(1): 29-37.
- Malachowa, N., A. Sabat, et al. (2005). "Comparison of multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis with pulsed-field gel electrophoresis, spa typing, and multilocus sequence typing for clonal characterization of *Staphylococcus aureus* isolates." J Clin Microbiol **43**(7): 3095-3100.
- Mangili, A., I. Bica, et al. (2005). "Daptomycin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia." Clin Infect Dis **40**(7): 1058-1060.
- Marrack, P. and J. Kappler (1990). "The staphylococcal enterotoxins and their relatives." Science **248**(4959): 1066.
- McCormick, J. K., J. M. Yarwood, et al. (2001). "Toxic shock syndrome and bacterial superantigens: an update." Annu Rev Microbiol **55**: 77-104.
- McDougal, L. K., C. D. Steward, et al. (2003). "Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a national database." J Clin Microbiol **41**(11): 5113-5120.
- Merrer, J., F. Santoli, et al. (2000). "'Colonization pressure' and risk of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical intensive care unit." Infect Control Hosp Epidemiol **21**(11): 718-723.
- Mody, L., C. A. Kauffman, et al. (2003). "Mupirocin-based decolonization of *Staphylococcus aureus* carriers in residents of 2 long-term care facilities: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial." Clin Infect Dis **37**(11): 1467-1474.
- Muder, R. R., C. Brennen, et al. (1991). "Methicillin-resistant staphylococcal colonization and infection in a long-term care facility." Ann Intern Med **114**(2): 107-112.
- Mulligan, M. E., K. A. Murray-Leisure, et al. (1993). "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a consensus review of the microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management." Am J Med **94**(3): 313-328.
- Murchan, S., M. E. Kaufmann, et al. (2003). "Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains." J Clin Microbiol **41**(4): 1574-1585.
- Musher, D. M., N. Lamm, et al. (1994). "The current spectrum of *Staphylococcus aureus* infection in a tertiary care hospital." Medicine (Baltimore) **73**(4): 186-208.
- Musser, J. M. and V. Kapur (1992). "Clonal analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from intercontinental sources: association of the mec gene with divergent phylogenetic lineages implies dissemination by horizontal transfer and recombination." J Clin Microbiol **30**(8): 2058-2063.
- Muto, C. A., J. A. Jernigan, et al. (2003). "SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and enterococcus." Infect Control Hosp Epidemiol **24**(5): 362-386.
- Mylotte, J. M., C. McDermott, et al. (1987). "Prospective study of 114 consecutive episodes of *Staphylococcus aureus* bacteremia." Rev Infect Dis **9**(5): 891-907.
- Narukawa, M., A. Yasuoka, et al. (2009). "Sequence-based spa typing as a rapid screening method for the areal and nosocomial outbreaks of MRSA." Tohoku J Exp Med **218**(3): 207-213.
- Nathani, N., P. Iles, et al. (2005). "Successful treatment of MRSA native valve endocarditis with oral linezolid therapy: a case report." J Infect **51**(4): e213-215.

- NNIS, N. N. I. S. (2003). "National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2003, issued August 2003." Am J Infect Control **31**(8): 481-498.
- Noble, W. C., H. A. Valkenburg, et al. (1967). "Carriage of Staphylococcus aureus in random samples of a normal population." J Hyg (Lond) **65**(4): 567-573.
- Noble, W. C., Z. Virani, et al. (1992). "Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from Enterococcus faecalis NCTC 12201 to Staphylococcus aureus." FEMS Microbiol Lett **72**(2): 195-198.
- Novick, R. P. (1990). The staphylococcus as a molecular genetic system. New York.
- Novick, R. P. (2003). "Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence." Mol Microbiol **48**(6): 1429-1449.
- Ogston, A. (1882). "Micrococcus Poisoning." J Anat Physiol **17**(Pt 1): 24-58.
- Oliveira, D. C., A. Tomasz, et al. (2001). "The evolution of pandemic clones of methicillin-resistant Staphylococcus aureus: identification of two ancestral genetic backgrounds and the associated mec elements." Microb Drug Resist **7**(4): 349-361.
- Patti, J. M., B. L. Allen, et al. (1994). "MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues." Annu Rev Microbiol **48**: 585-617.
- Petersson, A. C., B. Olsson-Liljequist, et al. (2010). "Evaluating the usefulness of spa typing, in comparison with pulsed-field gel electrophoresis, for epidemiological typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a low-prevalence region in Sweden 2000-2004." Clin Microbiol Infect **16**(5): 456-462.
- Pillai, S. K., G. Sakoulas, et al. (2002). "Linezolid resistance in Staphylococcus aureus: characterization and stability of resistant phenotype." J Infect Dis **186**(11): 1603-1607.
- Robertson, G. A., V. Thiruvengadaswamy, et al. (2004). "Identification and interrogation of highly informative single nucleotide polymorphism sets defined by bacterial multilocus sequence typing databases." J Med Microbiol **53**(Pt 1): 35-45.
- Rosendal, K., A. Stenderup, et al. (1963). "Staphylococcus Aureus Strains Isolated in Danish Hospitals from April 1st to December 31st 1960." Acta Pathol Microbiol Scand **58**: 72-84.
- Ross, T. L., W. G. Merz, et al. (2005). "Comparison of an automated repetitive sequence-based PCR microbial typing system to pulsed-field gel electrophoresis for analysis of outbreaks of methicillin-resistant Staphylococcus aureus." J Clin Microbiol **43**(11): 5642-5647.
- Rossney, A. S., C. M. Herra, et al. (2008). "Evaluation of the Xpert methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) assay using the GeneXpert real-time PCR platform for rapid detection of MRSA from screening specimens." J Clin Microbiol **46**(10): 3285-3290.
- Rotun, S. S., V. McMath, et al. (1999). "Staphylococcus aureus with reduced susceptibility to vancomycin isolated from a patient with fatal bacteremia." Emerg Infect Dis **5**(1): 147-149.
- Sabat, A., J. Krzyszton-Russjan, et al. (2003). "New method for typing Staphylococcus aureus strains: multiple-locus variable-number tandem repeat analysis of polymorphism and genetic relationships of clinical isolates." J Clin Microbiol **41**(4): 1801-1804.
- Sammeth, M. and J. Stoye (2006). "Comparing tandem repeats with duplications and excisions of variable degree." IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform **3**(4): 395-407.
- Sanabria, T. J., J. S. Alpert, et al. (1990). "Increasing frequency of staphylococcal infective endocarditis. Experience at a university hospital, 1981 through 1988." Arch Intern Med **150**(6): 1305-1309.
- Saravolatz, L. D., D. J. Pohlod, et al. (1982). "Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections: a new source for nosocomial outbreaks." Ann Intern Med **97**(3): 325-329.
- Schefold, J. C., F. Esposito, et al. (2007). "Therapy-refractory Panton Valentine Leukocidin-positive community-acquired methicillin-sensitive Staphylococcus aureus sepsis with progressive metastatic soft tissue infection: a case report." J Med Case Reports **1**: 165.

- Schwalbe, R. S., J. T. Stapleton, et al. (1987). "Emergence of vancomycin resistance in coagulase-negative staphylococci." N Engl J Med **316**(15): 927-931.
- Schwartz, D. C. and C. R. Cantor (1984). "Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis." Cell **37**(1): 67-75.
- Sheretz, R. J., D. R. Reagan, et al. (1996). "A cloud adult: the Staphylococcus aureus-virus interaction revisited." Ann Intern Med **124**(6): 539-547.
- Shimizu, A., M. Naka, et al. (2008). "[A follow-up survey of Staphylococcus aureus contamination of commercial raw minced meat at supermarkets and characteristics of isolates]." Shokuhin Eiseigaku Zasshi **49**(4): 320-325.
- Shopsin, B., M. Gomez, et al. (1999). "Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of Staphylococcus aureus strains." J Clin Microbiol **37**(11): 3556-3563.
- Shore, A. C., A. S. Rossney, et al. (2010). "Enhanced discrimination of highly clonal ST22-methicillin-resistant Staphylococcus aureus IV isolates achieved by combining spa, dru, and pulsed-field gel electrophoresis typing data." J Clin Microbiol **48**(5): 1839-1852.
- Shuter, J., V. B. Hatcher, et al. (1996). "Staphylococcus aureus binding to human nasal mucin." Infect Immun **64**(1): 310-318.
- Shutt, C. K., J. I. Pounder, et al. (2005). "Clinical evaluation of the DiversiLab microbial typing system using repetitive-sequence-based PCR for characterization of Staphylococcus aureus strains." J Clin Microbiol **43**(3): 1187-1192.
- Siboni, K. and E. D. Poulsen (1968). "The dominance of methicillin-resistant staphylococci in a county hospital." Dan Med Bull **15**(6): 161-165.
- Sievert, D. M., J. T. Rudrik, et al. (2008). "Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus in the United States, 2002-2006." Clin Infect Dis **46**(5): 668-674.
- Skov, R. (2005). "MRSA infections increasing in the Nordic countries." Euro Surveill **10**(8): E050804-050802.
- Smith, T. L., M. L. Pearson, et al. (1999). "Emergence of vancomycin resistance in Staphylococcus aureus. Glycopeptide-Intermediate Staphylococcus aureus Working Group." N Engl J Med **340**(7): 493-501.
- Spratt, B. G. (1999). "Multilocus sequence typing: molecular typing of bacterial pathogens in an era of rapid DNA sequencing and the internet." Curr Opin Microbiol **2**(3): 312-316.
- Steinberg, J. P., C. C. Clark, et al. (1996). "Nosocomial and community-acquired Staphylococcus aureus bacteremias from 1980 to 1993: impact of intravascular devices and methicillin resistance." Clin Infect Dis **23**(2): 255-259.
- Stephens, A. J., F. Huygens, et al. (2006). "Methicillin-resistant Staphylococcus aureus genotyping using a small set of polymorphisms." J Med Microbiol **55**(Pt 1): 43-51.
- Stranden, A., R. Frei, et al. (2003). "Molecular typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus: can PCR replace pulsed-field gel electrophoresis?" J Clin Microbiol **41**(7): 3181-3186.
- Strommenger, B., C. Bräulke, et al. (2008). "spa Typing of Staphylococcus aureus as a frontline tool in epidemiological typing." J Clin Microbiol **46**(2): 574-581.
- Strommenger, B., C. Kettlitz, et al. (2006). "Assignment of Staphylococcus isolates to groups by spa typing, SmaI macrorestriction analysis, and multilocus sequence typing." J Clin Microbiol **44**(7): 2533-2540.
- Tang, Y. W., M. G. Waddington, et al. (2000). "Comparison of protein A gene sequencing with pulsed-field gel electrophoresis and epidemiologic data for molecular typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus." J Clin Microbiol **38**(4): 1347-1351.
- Timmerman, C. P., E. Mattsson, et al. (1993). "Induction of release of tumor necrosis factor from human monocytes by staphylococci and staphylococcal peptidoglycans." Infect Immun **61**(10): 4167-4172.
- Tsao, M. M. and D. Katz (1984). "Central venous catheter-induced endocarditis: human correlate of the animal experimental model of endocarditis." Rev Infect Dis **6**(6): 783-790.

- Tsiodras, S., H. S. Gold, et al. (2001). "Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*." *Lancet* **358**(9277): 207-208.
- Tuazon, C. U., A. Perez, et al. (1975). "Staphylococcus aureus among insulin-injecting diabetic patients. An increased carrier rate." *JAMA* **231**(12): 1272.
- Tuazon, C. U. and J. N. Sheagren (1974). "Increased rate of carriage of *Staphylococcus aureus* among narcotic addicts." *J Infect Dis* **129**(6): 725-727.
- Turner, D., A. Wailoo, et al. (2003). "Systematic review and economic decision modelling for the prevention and treatment of influenza A and B." *Health Technol Assess* **7**(35): iii-iv, xi-xiii, 1-170.
- Uhlen, M., B. Guss, et al. (1984). "Complete sequence of the staphylococcal gene encoding protein A. A gene evolved through multiple duplications." *J Biol Chem* **259**(3): 1695-1702.
- van Belkum, A., W. van Leeuwen, et al. (1998). "Assessment of resolution and intercenter reproducibility of results of genotyping *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis of *Sma*I macrorestriction fragments: a multicenter study." *J Clin Microbiol* **36**(6): 1653-1659.
- Vaudaux, P., D. Pittet, et al. (1993). "Fibronectin is more active than fibrin or fibrinogen in promoting *Staphylococcus aureus* adherence to inserted intravascular catheters." *J Infect Dis* **167**(3): 633-641.
- von Eiff, C., K. Becker, et al. (2001). "Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group." *N Engl J Med* **344**(1): 11-16.
- von Heijne, G. and M. Uhlen (1987). "Homology to region X from staphylococcal protein A is not unique to cell surface proteins." *J Theor Biol* **127**(3): 373-376.
- Voss, A., D. Milatovic, et al. (1994). "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **13**(1): 50-55.
- Vriens, M., H. Blok, et al. (2002). "Costs associated with a strict policy to eradicate methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Dutch University Medical Center: a 10-year survey." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **21**(11): 782-786.
- Weinke, T., R. Schiller, et al. (1992). "Association between *Staphylococcus aureus* nasopharyngeal colonization and septicemia in patients infected with the human immunodeficiency virus." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **11**(11): 985-989.
- Weinstein, H. J. (1959). "The relation between the nasal-staphylococcal-carrier state and the incidence of postoperative complications." *N Engl J Med* **260**(26): 1303-1308.
- Wenzel, R. P. and T. M. Perl (1995). "The significance of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and the incidence of postoperative wound infection." *J Hosp Infect* **31**(1): 13-24.
- Wertheim, H. F., M. C. Vos, et al. (2004). "Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers." *Lancet* **364**(9435): 703-705.
- Whitener, C. J., S. Y. Park, et al. (2004). "Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the absence of vancomycin exposure." *Clin Infect Dis* **38**(8): 1049-1055.
- Wilcox, M. H., J. Hall, et al. (2003). "Use of perioperative mupirocin to prevent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) orthopaedic surgical site infections." *J Hosp Infect* **54**(3): 196-201.
- Wilkinson, B. J. (1997). *Staphylococci in human disease*.
- Witte, W. (2009). "Auftreten und Verbreitung von MRSA in Deutschland 2008." *Epidemiologisches Bulletin* **27 April 2009**(17).
- Witte, W., C. Bräulke, et al. (2005). "Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with Panton-Valentine leukocidin genes in central Europe." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **24**(1): 1-5.
- Yarwood, J. M. and P. M. Schlievert (2003). "Quorum sensing in *Staphylococcus* infections." *J Clin Invest* **112**(11): 1620-1625.
- Yu, V. L., A. Goetz, et al. (1986). "Staphylococcus aureus nasal carriage and infection in patients on hemodialysis. Efficacy of antibiotic prophylaxis." *N Engl J Med* **315**(2): 91-96.

Zetola, N., J. S. Francis, et al. (2005). "Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat." Lancet Infect Dis 5(5): 275-286.

7 Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

AHA	American Heart Association
BURP	Based Upon Repeat Pattern
BAL	Bronchioalveoläre Lavage
CA-MRSA	Community-acquired Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
CC	Clonaler Complex
CDC	Center of Disease Control and Prevention
cfu	Colony forming units
DNA	Desoxyribonukleinsäure
eBURST	Algorithmus zur sequenzbasierten Typisierung
EC-Puffer	Puffer, der für die Pulsfeldgelelektrophorese eingesetzt wird
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EMRSA	Epidemic Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
ESBL	Extended-Spectrum Beta-Lactamase
ES-Puffer	Puffer, der für die Pulsfeldgelelektrophorese eingesetzt wird
ETST	Exotoxin Sequence-Type
Ha-MRSA	hospital-acquired MRSA
HCL	Chlorwasserstoff
HNO	Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde
IKA	Labortechnikunternehmen
KISS	Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System
MHC	Major histocompatibility complex
MIC	Minimal inhibitory concentration
MKG	Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie

MLVA	Multiple-Loci-Variable-Number-of-Tandem-Repeat-Analysis
mM	Milimolar
MLST	Multi Locus Sequence Typing
MRSA	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MSCRAMM	Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules
MSSA	Methicillin-sensibler <i>Staphylococcus aureus</i>
NaCL	Natriumchlorid
nn-MRSA	nicht-nosokomial erworbener Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
n-MRSA	nosokomial erworbener Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
NNIS	National Nosocomial Infections Surveillance
NRZ	Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen
PEG	Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V.
PFGE	Pulsfeldgelelektrophorese
PBP2a	Penicillinbindeprotein 2a
PCN-Urin	Percutane Nephrostomie-Urin
PCR	Polymerase Chain Reaction
PVL	Panton-Valentine leukocidin
Rep-PCR	Repetitive Sequence-based Polymerase Chain Reaction
RKI	Robert Koch-Institut
RNA	Ribonucleic acid
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SCCmec	Staphylococcal cassette chromosome mec
SE	Staphylococcal Enterotoxins
SE-Puffer	Puffer, der für die Pulsfeldgelelektrophorese eingesetzt wird
SmaI	Eine Restriktionsendonuklease, die zum Schneiden von Staphylokokken-DNA für die Pulsfeldelektrophorese eingesetzt werden kann.

SNP	Single Nucleotid Polymorphism
SSSS	Staphylococcal Scalded Skin Syndrome
SSV	Small Colony Variants
<i>Spa</i> -typing	Sequence analysis of the protein A gene variable repeat region
ST	Sequence Type
TBE-Puffer	TRIS-Borat-EDTA Puffer
TE-Puffer	Puffer, der für die Pulsfeldgelelektrophorese eingesetzt wird
Tris-Puffer	Trishydroxymethyl-aminomethan Puffer
TSB	Tryptic Soy Broth
TSS	Toxic Shock Syndrome
TSST-1	Toxic Shock Syndrome Toxin-1
VISA	Vancomycin-intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
VRE	Vancomycin-resistant Enterococcus
VRSA	Vancomycin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.	MRSA-Fallzahl
Abb. 2.	Zahl der MRSA-Isolate geordnet nach Zugehörigkeit zu deutschen Epidemieklonen
Abb. 3	Verteilung der Epidemiestämme nach Jahren
Abb. 4	Verteilung der Epidemiestämme auf nn-MRSA und n-MRSA
Abb.5a	Zeitliche Veränderung der nosokomialen MRSA-Fälle
Abb. 5b	Zeitliche Veränderung der nichtnosokomialen MRSA-Fälle
Abb. 6	Patientenalter aller MRSA-Fälle
Abb. 7	Geschlechtsverteilung aller MRSA-Fälle
Abb. 8	Verteilung aller MRSA-Fälle auf die Universität Rostock und Peripherie
Abb. 9	Verteilung der MRSA-Fälle auf Fachbereiche
Abb.10	Veränderung der Verteilung der MRSA-Fälle in Fachbereichen

Abb.11	Veränderung des Barnimer Epidemiestammes
Abb.12	Veränderung des Rhein-Hessischen Epidemiestammes
Abb.13	Veränderung des Süddeutschen Epidemiestammes
Abb.14	Ausbrüche von Rhein-Hessischer im Jahr 2004
Abb.15	Ausbrüche von Rhein-Hessischer im Jahr 2006
Abb.16	Ausbrüche von Rhein-Hessischer und Barnimer im Jahr 2008
Abb.17	Durchschnittliche Einsendezeit der Proben von Fachbereichen
Abb.18	Zeitdauer bis zur Befundmitteilung an die Kliniker
Abb. 19	Affinität der Epidemiestämme zu Materialgruppen
Abb. 20	Nachweis der MRSA-Isolate in hoher und geringer Keimzahl
Abb. 21	Begleitende Mischflora beim Nachweis der MRSA-Isolate
Abb. 22	Antibiotikaempfindlichkeit aller Epidemiestämme
Abb. 23	Antibiotikaempfindlichkeit gegenüber Gyrasehemmer
Abb. 24	Antibiotikaempfindlichkeit gegenüber Aminoglykosiden
Abb. 25	Verlauf der Antibiotikaempfindlichkeit gegenüber Gentamicin in Relation zum Umsatzes von Gentamicin
Abb. 26	Antibiotikaempfindlichkeit gegenüber Makroliden und Lincosamiden
Abb. 27	Antibiotikaempfindlichkeit gegenüber Fusidinsäure und Fosfomycin
Abb. 28	Antibiotikaempfindlichkeit gegenüber Sulfonamiden und Tetracyclinen
Abb. 29	Antibiotikaempfindlichkeit gegenüber Glykopeptiden
Abb. 30	Antibiotikaempfindlichkeit gegenüber Rifampicin und Linezolid
Abb.31	Anteil der von extern zuverlegten Patienten
Abb. 32	Anteil der Kontaktpatienten
Abb. 33	Zeitfenster: Von stationäre Aufnahme des Patienten bis zur Erregerdetektion
Abb.34	Anteil der nosokomialen MRSA-Fälle und MRSA-Infektionen
Abb. 35	Krankenhausverweildauer der MRSA-Patienten

7.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Zusammenfassung der einzelnen Materialien zu Materialgruppen.
--------	---

7.4 Danksagung

Ich möchte allen danken, die einen Beitrag zu meiner Dissertation geleistet haben.

Ich danke meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. med. Podbielski, der den Weg für diese Arbeit ebnete und mir zahlreiche konstruktive Vorschläge machte.

Insbesondere danke ich meinem treuen Freund Dr. med. Hagen Frickmann, der seit meinem Studium mein Leben bereichert hat und auch dieses Mal mir jederzeit bei Seite stand. Ich möchte auch den Mitarbeitern des Institutes für Mikrobiologie, Virologie und Hygiene der Universität Rostock danken, mit deren Hilfe die umfangreiche Arbeit möglich geworden ist.

Ich danke auch meiner Ehefrau Jessica und meiner Familie für die Entbehrungen, die gemacht werden mussten, damit ich diese Dissertation durchführen konnte.

7.5 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt und verfasst habe. Ich habe keine unerlaubten oder ungenannten Hilfsmittel verwendet. Die Stellen, die anderen Werken dem Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, habe ich in jedem einzelnen Fall durch Angabe der Quelle kenntlich gemacht.

Ich erkläre hiermit weiterhin, dass ich meine wissenschaftlichen Arbeiten nach den Prinzipien der guten wissenschaftlichen Praxis gemäß der gültigen „Regeln zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zur Vermeidung wissenschaftlichen Fehlverhaltens“ an der Universität Rostock angefertigt habe.

Ulm, Oktober 2011

Piotr Gawlik

8 Thesenblatt

1. Mithilfe der PFGE lassen sich Veränderungen der klonalen Zusammensetzung von MRSA in einer Population erfassen. Die Veränderungen dieser klonalen Zusammensetzung gehen nur langsam vonstatten. Eine retrospektive Analyse mit 2-jährigem Intervall reicht aus, um Veränderungen der klonalen Zusammensetzung adäquat zu erfassen. Dagegen ist die PFGE für die Routinediagnostik in der Ausbruchsverifikation aufgrund der langen Untersuchungsdauer nur bedingt einsetzbar und wird zunehmend durch schnellere Verfahren wie die *spa*-Typisierung abgelöst.
2. Die Veränderungen der klonalen Zusammensetzung von MRSA sind regional unterschiedlich. An der Universität Rostock konnte eine Zunahme des Barnimer-Epidemiestamms und eine Abnahme des Süddeutschen Epidemiestamms in einem 5-jährigen Zeitraum verzeichnet werden.
3. Mithilfe der PFGE kann retrospektiv eine Ausbruchsverifikation auf den Stationen des Klinikums erfolgen. Die PFGE kann einen Beitrag für das Qualitätsmanagement leisten, da mit ihrer Hilfe Ausbruchssituationen in den Fachabteilungen erkannt und auf Lücken in der Einhaltung von Hygienemaßnahmen hingewiesen werden kann.
4. Durch eine enge Zusammenarbeit zwischen den klinischen Fachabteilungen und dem mikrobiologischen Labor sowie durch Beachtung präventiver Maßnahmen können eine Senkung der nosokomial erworbenen Fälle verzeichnet und die Krankenhausverweildauer der MRSA-Patienten gesenkt werden.
5. Die Zunahme von MRSA-Fallzahlen an der Universität Rostock erklärt sich durch ein verstärktes Screening zwecks Früherkennung von MRSA-Trägern.
6. Es besteht ein Zusammenhang zwischen dem Gebrauch von Antibiotika und dem Auftreten von Resistenzen, wie es für Aminoglykoside gezeigt werden konnte.
7. Der Einsatz der Glykopeptide und von Linezolid zur Therapie von MRSA ist an der Universität Rostock aufgrund fehlender Resistenzen Mittel der 1. Wahl.
8. Bei schweren klinischen Verläufen sollten PVL-positive Stämme ausgeschlossen werden. Die Beachtung von Hygienemaßnahmen ist die Voraussetzung zur Eindämmung dieser aggressiven MRSA-Infektionen.